



HAL
open science

**Biodisponibilité du calcium, magnésium et potassium
dans les sols forestiers : Quantification, traçage et
caractérisation des sources biodisponibles par dilution
isotopique stable (^{40}Ca , ^{24}Mg et ^{39}K)**

Jérémie Bel

► **To cite this version:**

Jérémie Bel. Biodisponibilité du calcium, magnésium et potassium dans les sols forestiers : Quantification, traçage et caractérisation des sources biodisponibles par dilution isotopique stable (^{40}Ca , ^{24}Mg et ^{39}K). Ecosystèmes. Université de Lorraine, 2021. Français. NNT : 2021LORR0078 . tel-03354259

HAL Id: tel-03354259

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03354259>

Submitted on 24 Sep 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Université de Lorraine

Ecole doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources Naturelles (SIReNa)
Laboratoire Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers UR 1138 INRAE

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du titre de Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité Biologie et écologie des forêts et des agrosystèmes

Biodisponibilité du calcium, magnésium et potassium dans les sols forestiers – Quantification, traçage et caractérisation des sources biodisponibles par dilution isotopique stable (^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K)

Par

Jérémie Bel

Soutenue publiquement le 18 février 2021

Devant le jury composé de

Mme. Anne-Désirée Schmitt	Maître de Conférences, Université de Strasbourg (LHyGeS)	Rapporteure
M. Bruno Delvaux	Professeur, Université Catholique de Louvain	Rapporteur
Mme. Sylvie Dousset	Professeure, Université de Lorraine (LIEC)	Examinatrice
M. Emmanuel Tertre	Professeur, Université de Poitiers (IC2MP)	Examineur
M. Julien Bouchez	Chargé de recherche, IPGP	Examineur
M. Laurent Saint-André	Directeur de recherche, INRAE – BEF	Directeur de thèse
M. Gregory van der Heijden	Chargé de recherche, INRAE – BEF	Co-encadrant
M. Thomas Eglin	Coordinateur R&D, ADEME	Invité
M. Arnaud Legout	Chargé de recherche, INRAE – BEF	Invité

Résumé

Les pools biodisponibles de calcium, magnésium et potassium sont considérés comme étant stocké dans les sols sous forme de cations échangeables adsorbés sur la capacité d'échange cationique et extractible avec une solution saline concentrée (e.g. NH_4^+ , Ba^{2+} , Cobaltihexamine, etc.). Dans de nombreux écosystèmes forestiers, malgré des pools échangeables très faibles, les peuplements maintiennent ne montrent aucun symptôme de carence pour ces cations nutritifs. Les discordances entre les différentes méthodes de diagnostic de la fertilité chimique du sol suggèrent que les arbres accèdent à des sources de nutriments non-quantifiés par les analyses conventionnelles des sols. Dans le contexte des changements globaux, dans lequel le risque de dégradation sur le long terme de la fertilité chimique des sols forestiers est accru, l'identification et la quantification des sources biodisponibles de nutriments dans les sols est essentiel pour mieux comprendre le fonctionnement biogéochimique des écosystèmes forestiers et pour assurer la gestion durable de ces écosystèmes.

L'objectif principal de ces travaux de thèse est d'identifier et quantifier les pools de Ca, Mg et K du sol qui contribuent directement aux réactions d'équilibre géochimique avec la solution du sol à travers une technique innovante de dilution isotopique utilisant les isotopes stables ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K . Pour cela, nous avons mesuré les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K par dilution isotopique de 177 échantillons individuels de sol provenant de 26 sites couvrant des conditions pédoclimatiques et de couvert forestiers différents.

Les résultats ont mis en évidence que les pools source/puits du sol contribuant aux réactions d'équilibre géochimiques avec la solution du sol (pools isotopiquement échangeables) ne se limitent pas aux pools échangeables mesurés par les méthodes conventionnelles d'analyses de sol. Les pools isotopiquement échangeables étaient supérieurs aux pools échangeables conventionnels pour 81%, 87% et 90% des échantillons respectivement pour le Ca, Mg et K. Ces pools additionnels pouvaient représenter, dans de nombreux cas, plus de 50% du pool quantifié par la méthode conventionnelle. Bien que les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K sont majoritairement constitués de Ca, Mg et K échangeables extractible par l'ion NH_4^+ , les résultats ont montré que du Ca, Mg et K contenus dans des phases du sol **extractibles par un acide fort (HNO_3)** contribuent également aux réactions d'équilibre géochimique avec la solution du sol. Ces pools disponibles, non-prises en compte par les analyses de sol conventionnelles sont associés à des minéraux secondaires amorphes et mal cristallisés en interactions avec les matières organiques du sol pour le Ca et à des sites spécifiques de K des phyllosilicates ainsi qu'à des phases aluminosilicatés amorphes pour le K.

L'étude de l'évolution des propriétés physico-chimiques conventionnelles et des pools isotopiquement échangeables de Mg, Ca et K sur 11 sites du réseau RENECOFOR entre deux campagnes d'échantillonnage du sol à 15 ans d'intervalle a permis de démontrer que les pools isotopiquement échangeables sont très dynamiques et jouent un rôle en tamponnant la biodisponibilité des cations nutritifs dans le sol.

L'ensemble de ces travaux soulignent la pertinence de l'approche par dilution isotopique couplée aux approches conventionnelles pour i) quantifier les pools source/puits des cations nutritifs dans les sols, ii) tracer les différents pools qui composent le pool source/puits et ainsi caractériser les phases du sol qui portent ce pool source/puits et iii) mieux comprendre l'évolution de la fertilité chimique du sol au cours du temps.

Mots clés : Cycles biogéochimiques, forêt, biodisponibilité, traçage isotopique, calcium, magnésium, potassium

Plant-availability of calcium, magnesium and potassium in forest soils – Quantifying, tracing and characterizing plant-available sources by stable isotopic dilution (^{44}Ca , ^{26}Mg and ^{41}K)

Abstract

The plant available pools of calcium, magnesium and potassium are commonly assumed to be stored in the soil as exchangeable cations adsorbed on the cationic exchange capacity and extractible with a concentrated salt reagent (e.g. NH_4^+ , Ba^{2+} , hexamminecobalt, etc.). Many forest ecosystems have low to very low exchangeable pools of nutrient cations in the soil yet they show no nutrient deficiency symptoms. The discrepancies between different soil chemical fertility diagnosis approaches suggest that trees access nutrient resources that are not currently taken into account by conventional soil analysis methods. In the context of global change, the degradation of the chemical fertility of forest soils is a major concern. Identifying and quantifying the plant-available resources of nutrients in the soil is thus essential to better understand the biogeochemical functioning of forest ecosystems and ensure their sustainable management.

The main objective of this PhD research is to identify and quantify the pools of Ca, Mg and K that contribute directly to the geochemical equilibrium processes between the soil and the solution with an innovative approach: ^{44}Ca , ^{26}Mg and ^{41}K stable isotopic dilution. The isotopically exchangeable pools of Ca, Mg and K were measured by isotopic dilution in 177 individual soil samples from 26 sites covering a wide range of climatic, soil and forest cover contexts.

The results demonstrate that the source/sink pool of the soil (pool in geochemical equilibrium with the soil solution, i.e. isotopically exchangeable pool) was not solely composed of the exchangeable pools measured by conventional soil analysis methods. The isotopically exchangeable pools were greater than the conventional exchangeable pools for 81%, 87% and 90% of the analyzed samples respectively for Ca, Mg and K. The additional pools of Ca, Mg and K in many cases were greater than 50% of their respective conventional exchangeable pool. Although the isotopically exchangeable pools are mainly composed of Ca, Mg and K extractible with an NH_4^+ reagent, results show that Ca, Mg and K contained in soil phases extractible with a strong acid (HNO_3) also contribute directly to equilibrium processes between the soil and the solution. These available pools that are not currently accounted for by conventional soil analysis methods, are likely associated to amorphous and poorly crystalline secondary minerals in interaction with organic compounds for Ca and to K-specific sites in phyllosilicates and/or amorphous aluminosilicates for K.

Comparing the changes in conventional physical and chemical soil properties and isotopically exchangeable pools of Mg, Ca and K at 11 sites of the RENECOFOR network between two sampling dates 11 years apart enabled to demonstrate that the isotopically exchangeable pools are very dynamic and play an active role in buffering the plant-availability of nutrient cations in the soil.

This PhD work shows that the isotopic dilution approach combined with conventional approaches is a very relevant and powerful approach to i) quantify the source/sink pools of nutrient cations in the soil, ii) trace the different pools that compose the source/sink pool as well as characterize the soil phases that support the source/sink pool and iii) better understand how the soil chemical fertility changes over time.

Keywords: biogeochemical cycling, forest, plant-availability, isotopic tracing, calcium, magnesium, potassium

Remerciements

Ce n'est, sans une nostalgie certaine, que je m'apprête à mettre un point final à cette incroyable aventure. Une aventure qui a été d'une richesse humaine et scientifique au-delà de tout ce que j'avais pu imaginer. Je me retrouve, à mon tour, à la place de précédent-e-s doctorant-e-s pour qui j'ai eu tant d'admiration et pour laquelle je me suis dit « Et pourquoi pas moi ? ». Voilà maintenant un peu plus de 4 ans que j'arpente les sentiers de la recherche, et ces années ont été jalonnées par de merveilleuses rencontres et péripéties que je garderai précieusement en souvenir. Tel Frodon, cette quête n'aurait pas abouti sans le soutien d'une communauté que je tâcherai ici de remercier.

Je souhaite en premier lieu remercier l'ensemble des organismes financeurs de ce travail de thèse sans qui celle-ci n'aurait pas été possible : l'ADEME, l'INRAE, l'ONF et la Région Lorraine.

Je souhaiterais remercier les membres de mon jury de thèse, **Anne-Désirée Schmitt**, **Bruno Delvaux**, **Sylvie Dousset**, **Emmanuel Tertre** et **Julien Bouchez** d'avoir accepté d'évaluer mes travaux.

Je remercie très chaleureusement les membres de mon comité de suivi, **Anne Poszwa** et **Jean-Louis Morel**, qui ont contribué à ma réflexion scientifique et à prendre du recul sur mes travaux de thèse. Vous avez toujours eu un regard bienveillant sur mes travaux. Je vous remercie pour cela.

Je tiens à remercier infiniment **Laurent Saint-André**, **Arnaud Legout** et **Gregory van der Heijden** de la confiance que vous m'avez accordé pour mener à bien ce projet. Votre encadrement a été des plus optimaux et vous toujours su, à travers une approche positive et bienveillante, m'aider à construire ma réflexion et ma culture scientifique. Gregory, je ne te remercierai jamais assez pour la confiance et le temps que tu m'as accordé ces 4 dernières années. Tu as été d'un soutien de tous les instants et d'une patience à toute épreuve. Merci à toi pour ton écoute et de m'avoir fait découvrir l'incroyable monde des sols forestiers ! Un grand merci également à toi Arnaud pour t'être rendu disponible à chaque moment, ainsi que pour tes précieux conseils sur l'interprétation des résultats et sur le fonctionnement des sols forestiers. Je te remercie aussi Laurent, pour ton écoute dans mes moments de doutes et pour ton encadrement bienveillant.

Je tiens également à remercier celles et ceux qui m'ont aidé au laboratoire : **Benoît Pollier** pour l'ICP-MS et l'ICP-OES, **Gil Nourisson** et **Marie-Christine Gehin** pour l'ICP-OES et la minéralisation acide au four à micro-onde, Séverine Bienaimé pour la fumigation des sols, **Pascal Bonnaud** pour les conseils sur l'optimisation du travail en laboratoire et les bases de données du réseau Douglas, et **Serge Didier** pour m'avoir fait découvrir la fameuse technique de la « main qui caresse » pour échantillonner l'humus à Breuil. Merci pour votre temps et votre disponibilité à m'expliquer le fonctionnement des différents instruments de mesure et surtout, à adopter de bonnes pratiques à la conduite d'expérimentations en laboratoire (les EPI c'est la vie !). Ben, je te remercie tout particulièrement pour les 800 dilutions que tu as réalisées pour moi et pour ton aide précieuse face aux caprices de l'ICP-MS. Je n'aurais finalement pas réussi à battre le record du plus grand nombre d'échantillons passés d'une traite à l'ICP-MS ! Je te remercie également **Philippe Santenoise** pour tes conseils avisés en analyse statistique et sur l'utilisation de R, et tout simplement pour les échanges très sympathiques qu'on a pu avoir.

A ces personnes, s'ajoute l'ensemble des personnes du laboratoire pour la bonne humeur qui a régné au quotidien dans les couloirs du labo et qui fait qu'à BEF, on s'y sent bien ! **Arnaud R** (ça se casse la gueule !), **Samir**, **Jean-Philippe**, **Carine**, **Max**, **Zoé**, **Marie-Clo**, **Julien** et **Joseph** (bichon) merci pour tous ces bons moments de franches rigolades durant les précieuses pauses-café ou les parties de ping-pong et de fitness à la salle de sport. Merci aux autres aventuriers thésards du BEF ou extérieur qui ont croisé mon chemin : **Marie**, **Mélanie**, **Gil** (les parties de désch-tennis ont manqué à ton départ), **Emila** (je lirai ton livre bientôt promis !), **Ingrid** (BFF pour toujours !), **Margaux**, **Jeanne** et **Félix**. Il y a eu les personnes qui ont eu la chance de partager de manières éphémères mon bureau, merci **Julianne** ce fut une belle rencontre et j'ai beaucoup apprécié ta vision de la vie, thanks **Polina & Melisse** (hope you're doing good with Honor) to have supported me at the lab, it was a real pleasure to have met you and I wish you the best for the future.

Merci également à **Isabelle Martin** et **Murielle Gillard** pour votre soutien administratif, mais avant tout pour votre perpétuelle bonne humeur !

Je tiens également à remercier **Delphine Derrien**, merci de m'avoir fait confiance et permis de faire une intervention sur les sols dans l'école de ta fille mais plus généralement pour ton écoute et ton humanisme. **Jacques Ranger**, j'ai beaucoup apprécié nos quelques échanges sur les sols forestiers et **Bernd Zeller**, merci à toi pour ton soutien et ton positivisme à toute épreuve.

Jérôme Demaison, tu fais partie des plus belles rencontres de cette aventure et je me devais de te faire un petit encart. Je ne pensais pas que quelqu'un puisse cumuler autant de qualités et rester aussi humble. Tu es quelqu'un de grande valeur et d'une grande inspiration pour moi. J'espère qu'on gardera contact à l'avenir.

J'adresse un grand merci à mes collègues doctorant-e-s élu-e-s au conseil scientifique de l'université de Lorraine : **Georges** et **Djésia**.

Je tiens également à remercier des personnes qui ont été à l'origine de tout lors de mes tribulations au sein du Laboratoire Sols & Environnement. Merci **Sophie** pour m'avoir transmis la flamme pour la recherche durant mon stage de M2, c'est par là que tout a commencé ! **Alain**, grand manitou de l'extraction de collemboles. Je garde en souvenir de supers moments (notamment à Paris) et tu as été un mentor de vie durant ces dernières années, merci à toi. Je ne saurais finir sans un petit clin d'œil à **Yanick** aka mister gougère, peu de temps passé ensemble, mais je n'en retiens que des bons souvenirs et de rigolades. Merci à toi.

Mes très chers colocataires (**Axel D**, **Hugo**, **Yolina**, **Camille**, **Emily**, **Sénamie**, **Axel L**). Ô combien cette aventure n'aurait pas été la même sans les soirées à fouiller les poubelles, à refaire le monde un lundi matin 7h, à discuter sur consensus du bien-être apporté par le chocolat ou tout simplement boire une bière. Ces moments du quotidien ont été riches, souvent improbables et toujours agréables !

Enfin, je tiens à remercier deux personnes qui me sont chères et qui ont considérablement œuvré à me soutenir durant ces quatre années. Merci pour tes relectures et corrections **Philippe**, mais surtout pour cette amitié qui dure depuis bientôt 20 ans ! **Mathilde**. Je ne saurais comment te rendre tout ce que tu m'as apporté et que tu m'apportes au quotidien. Merci d'avoir été là, pour ton soutien et pour ton écoute. La vie n'aurait pas la même saveur sans toi.

Je vous remercie ainsi toutes et tous, ma thèse c'est vous.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Remerciements	v
Table des matières	ix
Liste des figures	xiii
Liste des tableaux	xxi
Chapitre I : Introduction Générale	1
1. Importance économique, écologique et sociale des écosystèmes forestiers.....	3
2. Fertilité des sols forestiers, cycles biogéochimiques et nutrition des arbres	4
2.1. Définition du concept de fertilité du sol adapté aux écosystèmes forestiers.....	4
2.2. <i>Rôle du magnésium, calcium et potassium dans les écosystèmes forestiers</i>	7
2.3. <i>La durabilité de la fertilité des sols forestiers dans le contexte actuel de changements globaux</i>	7
3. Biodisponibilité des cations nutritifs: définition actuelle et méthodes de mesures.....	9
3.1. <i>Définition et modèle conceptuel agronomique</i>	9
3.2. <i>Adaptation de la définition de biodisponibilité aux écosystèmes forestiers</i>	10
4. Les outils conventionnels d'étude de la fertilité des sols forestiers et leurs limites	19
5. Les outils isotopiques pour quantifier les pools biodisponibles et étudier les processus de biodisponibilité.....	21
5.1. <i>Approche par dilution isotopique : principe général</i>	21
5.2. <i>Utilisation des radioisotopes</i>	23
5.3. <i>Utilisation des isotopes stables</i>	24
6. Hypothèses et objectifs de la thèse	26
Références.....	28
Chapitre II : Matériels et Méthodes	36
1. Site d'étude	38
1.1. <i>Sélection des sites d'études</i>	38
1.2. <i>Bases de données et propriétés physico-chimiques des sites d'études</i>	44
2. Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium	49
2.1. <i>Concept général de la mesure des pools isotopiquement échangeables</i>	49
2.2. <i>Approches expérimentales</i>	50
2.3. <i>Méthodes d'analyses</i>	55
2.4. <i>Méthode de calcul</i>	56
2.5. <i>Limites de quantification</i>	59

2.6. Validation post-analytique des échantillons	59
3. Méthodes statistiques	60
Références	62

Chapitre III : Etude comparative de différentes approches directes et indirectes pour quantifier le pool isotopiquement échangeable 65

1. Introduction	66
2. Matériel et Méthodes	69
2.1. Sites d'étude	69
2.2. Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium	71
2.3. Méthodes d'analyses	75
2.4. Méthode de calcul	75
2.5. Limites de quantification	77
2.6. Validation post-analytique des échantillons	77
2.7. Méthodes statistiques	79
3. Résultats	81
3.1. Comparaison des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K en fonction de la méthode.	81
3.2. Equilibre isotopique et élémentaire.....	83
3.3. Comparaison des pools élémentaires extraits.....	87
3.4. Comparaison des distributions de traceurs dans les différents compartiments (Solution, NH ₄ et HNO ₃)	91
3.5. Estimation des pools isotopiquement échangeables par modélisation	93
4. Discussion	97
4.1. Comparaison des approches expérimentales dédiées à la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K.	97
4.2. Recommandation expérimentale	103
4.3. Méthode indirecte d'estimation des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K par une approche multivariée.	105
Références	107

Chapitre IV : Conventional analysis methods underestimate the plant-available pools of calcium, magnesium and potassium in forest soils.....110

Abstract	112
1. Introduction.....	112
2. Results	115
2.1. Isotopically exchangeable pools.....	115
2.2. Tracer recovery in the different soil pool.....	117
3. Discussion	119
3.1. Isotopically exchangeable pools.....	119

3.2.	<i>Storage forms</i>	120
3.3.	<i>Implication at the soil profile scale</i>	125
4.	Conclusion	127
5.	Material and Methods	129
5.1.	<i>Study sites</i>	129
5.2.	<i>Isotopically exchangeable pools of Mg, Ca and K</i>	130
5.3.	<i>Calculation methodology</i>	131
	Reference	134
	Additional information	139

Chapitre V : Apport de l'approche isotopique à la compréhension de l'évolution de la fertilité chimique du sol : étude sur 11 sites du réseau RENECOFOR.....153

1.	Introduction	154
2.	Matériel et Méthodes	159
2.1.	<i>Sites d'étude</i>	159
2.2.	<i>Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium</i>	160
2.3.	<i>Méthode de calcul</i>	163
2.4.	<i>Limites de quantification</i>	165
2.5.	<i>Validation post-analytique des échantillons</i>	165
2.6.	<i>Méthodes statistiques</i>	166
3.	Résultats et Discussion	167
3.1.	<i>Amélioration de la fertilité : Groupe 3</i>	170
3.2.	<i>Etat stationnaire ou légère dégradation : Groupe 2</i>	176
3.3.	<i>Dégradation de la fertilité : Groupe 1</i>	180
3.4.	<i>Comparaison de différentes approches d'estimations des pools de Ca, Mg et K en équilibre avec la solution du sol et de leurs évolutions.</i>	186
4.	Conclusion	193
	Références	195

Chapitre VI : Synthèse Générale201

1.	Comparaison de différentes approches expérimentales pour mesurer le pool isotopiquement échangeable	203
1.1.	<i>Différences de cinétiques élémentaire et isotopique</i>	204
1.2.	<i>Processus d'altération minérale</i>	205
1.3.	<i>Différences d'accessibilité de certains sites d'échange/adsorption</i>	209
1.4.	<i>Recommandation expérimentale</i>	210
2.	Quantification des pools de Ca, Mg et K isotopiquement échangeable et comparaison aux pools échangeable conventionnels	211

3.	Identification des pools source/puits de Ca, Mg et K dans les sols.....	219
3.1.	<i>Calcium</i>	219
3.2.	<i>Potassium</i>	222
3.3.	<i>Magnésium</i>	225
4.	Contribution de la mesure des pools biodisponibles de cations nutritifs par dilution isotopique à la compréhension de l'évolution de la fertilité chimique du sol	226
4.1.	<i>Amélioration de la fertilité: Groupe 3</i>	228
4.2.	<i>Etat stationnaire ou légère dégradation: Groupe 2</i>	233
4.3.	<i>Dégradation de la fertilité: Groupe 1</i>	237
5.	Estimation des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K par des approches indirectes	239
5.1.	<i>Influence de la nature du réactif utilisé pour mesurer les pools échangeables conventionnels sur la différence entre ces pools et les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K</i>	240
5.2.	<i>Utilisation du pool échangeable expérimental comme indicateur des pools isotopiquement échangeables</i>	245
5.3.	<i>Modèle prédictif des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K à partir des données conventionnelles et expérimentales</i>	251
6.	Les limites de l'approche par dilution isotopique	256
6.1.	<i>Marquage isotopique des différentes phases du sol</i>	256
6.2.	<i>Le choix des réactifs pour extraire les différentes phases du sol</i>	258
6.3.	<i>Disponibilité des cations adsorbés sur des sites d'échange spécifique</i>	258
6.4.	<i>Influence de l'équilibre chimique</i>	259
6.5.	<i>Effets du prétraitement des échantillons de sol</i>	260
	Références.....	261
	Chapitre VII : Conclusion Générale	265

Liste des figures

Figure I-1. Carte de répartition des formations boisées en France par type d'essence (IGN 2019).	3
Figure I-2. Représentation schématique des flux d'entrées et de sorties des cycles biogéochimiques des éléments dans les écosystèmes forestiers (image racine ©dlnpng.com, image arbre ©favpng.com).	6
Figure I-3. Représentation schématique du concept de biodisponibilité dans sa forme la plus simplifiée.	10
Figure I-4. Représentation schématique des types d'eau dans le sol (adapté de Marques et.al. (1996).	12
Figure I.5. Evolution des concentrations en éléments chimiques des solutions de sol en fonction de la profondeur et du type d'eau récolté (la figure est tirée de la thèse de Legout Arnaud, 2008).	13
Figure I-6. Représentation schématique du modèle conceptuel de biodisponibilité adapté aux écosystèmes forestiers.	19
Figure I-7. Représentation schématique du principe de dilution isotopique et de la mesure des pools isotopiquement échangeables. (a) Les « barplots » représentent l'évolution de la composition isotopique en ^{41}K et ^{39}K dans chaque compartiment. (b) Les compartiments bleu et brun représentent respectivement la phase liquide (solution de traçage) et la phase solide (échantillon de sol). (c) Le graphique représente l'évolution du rapport isotopique $^{41}\text{K}/^{39}\text{K}$ théorique mesurée au court du temps.	22
Figure II-1. Localisation des sites expérimentaux	40
Figure II-2. Représentation schématique du protocole d'échantillonnage des sites de réseau RENECOFOR (l'image n'est pas à l'échelle). La figure est tirée de Jonard et.al. (2017).	43
Figure II-3. Distributions des échantillons sur un diagramme de texture. La classification est tirée du système de classification de Jamagne, 1697 (modifié depuis).	45
Figure II-4. Distribution du pH _{eau} , de la teneur en carbone et de la teneur en azote totale en fonctions du type de sol et de la profondeur.	46
Figure II-5. Distribution des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K en fonctions du type de sol et de la profondeur.	47
Figure II-6. Distribution des capacités d'échanges cationiques, d'acidité d'échange et des taux de saturation en bases échangeables en fonctions du type de sol et de la profondeur.	48
Figure II-7. Représentation schématique du dispositif expérimental en agitation.	53
Figure II-8. Représentation schématique du dispositif expérimental en percolation d'une colonne de sol.	54

Figure II-9. Représentation schématique de la distribution des traceurs dans les trois pools extraits du sol ($\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3) et de la fraction isotopiquement échangeable de chaque pool. Un exemple du calcul de la contribution relative du pool $\text{NH}_4\#1$ de Ca, Mg ou K au pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg ou K est schématisé en bas de la figure. 57

Figure III-1. Comparaison entre dispositifs des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. Les droites pleines et en pointillées représentent respectivement $y:x = 1$ et la régression linéaire. La distribution des ratios $E_{x_agitation}:E_{x_percolation}$ et les p-value des tests de comparaison de Wilcoxon-Mann-Whitney sont données dans le tableau. L'astérisque indique que le critère d'homoscédasticité n'est pas respecté. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses. 81

Figure III-2. Représentation de Bland-Altman des différences des paires ($E_{x_agitation} - E_{x_percolation}$) exprimés en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en fonction des moyennes des paires exprimés en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Les droites bleues représentent les régressions linéaires ajustées sur le jeu de données. Les droites horizontales pleines et en pointillées représentent respectivement les moyennes des différences et les intervalles ± 1.96 écart-type. Le nombre d'échantillons (n) est indiqué entre parenthèses. 82

Figure III-3. Evolution des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. Le nombre d'échantillons validés (n) pour chaque dispositif et chaque élément est indiqué entre parenthèses. 84

Figure III-4. Evolution des concentrations élémentaires de Ca, Mg et K en solution entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. 85

Figure III-5. Evolution des concentrations élémentaires de Al, Fe et Si en solution entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. 86

Figure III-6. Comparaison des quantités de Ca, Mg et K extraites i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) cumulés dans les extractions à l'acétate et en solution (solution + NH_4) et iii) extraites dans l'extraction à l'acide nitrique (HNO_3). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. 88

Figure III-7. Comparaison des quantités de Al, Fe et Si extraites i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) cumulés dans les extractions à l'acétate et en solution (solution + NH_4) et iii) extraites dans l'extraction à l'acide nitrique (HNO_3). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. 91

Figure III-8. Boxplot des distributions relatives de traceur trouvé dans chaque compartiment extrait rapporté à la quantité totale de traceur trouvé dans le système (solution et sol). Le nombre d'échantillons (n) est donné entre parenthèses. 93

Figure III-9. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Ca (E_{Ca}) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	94
Figure III-10. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Mg (E_{Mg}) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	95
Figure III-11. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de K (E_K) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	96
Figure III-12. Comparaison entre dispositifs des capacités d'échanges cationiques effectives estimées (ECEC). Les ECEC sont calculées en sommant les quantités de Ca, Mg, K, Na, Al, Fe, et Mn extraits dans les extractions $NH_4\#1$ et $NH_4\#2$. La droite pleine représente $y:x = 1$.	99
Figure IV-1. Histogram and boxplot of the distribution of the $E_x:Exch_x$ ratios for Ca, Mg and K. E_x represents the isotopically exchangeable pool and $Exch_x$ the conventional exchangeable pool. The number of validated samples (n) is given in brackets.	115
Figure IV-2. Relationship between the $E_x:Exch_x$ ratio and the conventional exchangeable ($Exch_x$) pools for Ca, Mg and K.	116
Figure IV-3. Relationship between isotopically exchangeable (E_x) and conventional exchangeable ($Exch_x$) pools for Ca, Mg and K. Linear regression parameters are given in each figure. Solid and dotted lines represent, respectively, $y:x = 1$ and linear regression.	117
Figure IV-4. Relative contribution (%) of each extracted soil pool ($NH_4\#1$, $NH_4\#2$ and HNO_3) to the isotopically exchangeable pool (E_x) for Ca, Mg and K. The number of validated samples (n) is given in brackets.	118
Figure IV-5. Relationship between the isotopic recovery of Ca in the HNO_3 -extracted pool and (a) total carbon, (b) Fe HNO_3 -extracted pool, (c) Tamura and (d) pyrophosphate extractible Fe. (e) shows the relationship between the relative contribution of the Ca HNO_3 -extracted pool and the Al HNO_3 -extracted pool. The linear regressions are represented by the dotted lines.	121
Figure IV-6. Relationship between the pourcentage of clay (texture class $< 2 \mu m$) in soil samples and the isotopically exchangeable fraction of the HNO_3 -extracted K pool. The linear regression is represented by the dotted line.	124

Figure IV-7. Boxplot distribution of the differences between Ex and Exchx stocks at the soil profile scale for Ca, Mg and K. The number of soil profiles (n) is given in brackets.	126
Figure IV-8. Conceptual model of Ca, Mg and K plant-availability. Dot-ended lines symbolize a support function. Black boxes and arrows symbolize the pools and fluxes of nutrient cations that are taken in the current conceptual model. Red boxes and arrows represent the pools and fluxes evidenced by the present study.	128
Figure V-1. Distribution des évolutions des taux de saturation (S/T) et des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca, Exch Conv Mg, Exch Conv K) des 33 échantillons étudiés. Les échantillons sont classés selon le critère d'évolution du taux de saturation entre les deux campagnes de prélèvement : diminution du S/T (groupe 1), pas ou peu d'évolution du S/T (groupe 2) et augmentation du S/T (groupe 3).	168
Figure V-2. Distribution pour les trois groupes des évolutions des pH_{eau} et pH_{CaCl2} des sols entre les deux campagnes.	170
Figure V-3. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv _{Ca} , Exch Conv _{Mg} et Exch Conv _K) et des évolutions du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange (Exch _{acidity}) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.	171
Figure V-4. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools isotopiquement échangeables de Ca et K (E_{Ca} , E_K), du pool isotopiquement échangeable de Ca extrait par la méthode HNO_3 ($E_{Ca} - HNO_3$) et des pools de Ca, Mg et K extraits par la méthode HNO_3 entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.	173
Figure V-5. Distribution pour les trois groupes, des évolutions de la teneur en carbone totale des sols en fonction de la profondeur entre les deux campagnes. Les sites SP57 et EPC63 ont été retirés de cette figure.	175
Figure V-6. Distribution pour les trois groupes, des pools initiaux d'Al, Si, Na, Ca, Mg et K extraits à l'acide nitrique (valeurs de la première campagne). Pour ces figures, le site EPC63 a été retiré du jeu de données.	176
Figure V-7. Distribution pour les trois groupes et en fonction de la profondeur, des valeurs de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca, Exch Conv Mg et Exch Conv K) ainsi que du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange (Exch _{acidity}) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.	178
Figure V-8. Distribution pour les trois groupes, de la contribution relative du pool nitrique de Ca au pool E_{Ca} initial (valeurs de la campagne 1). Pour cette figure, le site EPC63 a été retiré du jeu de données.	179
Figure V-9. Comparaison des teneurs en soufre extraites à l'acide nitrique et de leur évolution entre les deux campagnes de prélèvement en fonction du type de sol. Le type de sol andosol n'est représenté que par le site EPC63.	181

Figure V-10. Comparaison des pools échangeables expérimentaux (Exch_Exp _x) aux pools isotopiquement échangeables (E _x en vert) et aux pools échangeables conventionnels (Exch_Conv _x en rouge). Les axes ont subi une transformation logarithmique.	188
Figure V-11. Evolution entre les deux campagnes des pools échangeables conventionnels (Exch_Conv _x rouge), expérimentaux (Exch_Exp _x gris foncé) et isotopiquement échangeable (E _x en vert) de Ca et K en fonction du groupe. Les jeux de données utilisés pour ces figures ont été restreints aux échantillons de sols possédant des valeurs de pools isotopiquement échangeables de Ca et K respectivement (population d'échantillons comparables).	191
Figure V-12. Evolution entre les deux campagnes de prélèvement des pools échangeables conventionnels (Exch_Conv _x rouge) et expérimentaux (Exch_Exp _x gris foncé) de Ca, Mg et K en fonction du groupe.	192
Figure VI-1. Représentation de Bland-Altman des différences des paires (E _{x_agitation} – E _{x_percolation}) exprimés en µg.g ⁻¹ en fonction des moyennes des paires exprimés en µg.g ⁻¹ . Les régressions linéaires sont représentées par les droites bleues. Les droites horizontales pleine et en pointillés représentent respectivement les moyennes des différences et les intervalles (±1.96 écart-type).	204
Figure VI-2. Evolution des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K entre l'avant-dernier (i.e. 24h) et les derniers pas de temps (i.e. 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation) pour les deux dispositifs expérimentaux. Les droites pleines représentent y:x = 1. Le nombre d'échantillons validés (n) pour chaque dispositif et chaque élément est indiqué entre parenthèses.	206
Figure VI-3. Evolution des concentrations élémentaires de Ca, Mg, K, Al, Fe et Si en solution entre l'avant-dernier (i.e. 24h) et les derniers pas de temps (i.e. 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation) de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux. Les droites pleines représentent y:x = 1.	207
Figure VI-4. Comparaison des quantités extraites de Ca, Mg, K, Al, Fe et Si dans les extractions acétates (NH ₄) et dans l'extraction HNO ₃ . Les droites pleines représentent y:x = 1.	208
Figure VI-5. Histogramme et boxplot des distributions des ratios E _x :Exch_Conv _x pour le Ca, Mg et K. E _x représente les pools isotopiquement échangeables mesurés et Exch_Conv _x les pools échangeables conventionnels. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses.	212
Figure VI-6. Contribution relative (%) de chaque extraction de sol au pool isotopiquement échangeable (E _x) de Ca, Mg et K. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses.	213
Figure VI-7. Boxplots des fractions isotopiquement échangeables des pools NH ₄ #1 et NH ₄ #2 extraits de Ca, Mg et K. Le nombre d'échantillon (n) est indiqué entre parenthèses.	215

Figure VI-8. Relations entre les fractions isotopiquement échangeables des pools $\text{NH}_4\#1$ et $\text{NH}_4\#2$ extraits de Ca, Mg et K et les pools échangeables conventionnels respectifs.	216
Figure VI-9. Boxplots des distributions des ratios $E_x:\text{Exch_Conv}_x$ de Ca, Mg et K en fonction du type de sol et des classes de profondeurs. Pour le Ca, l'abscisse a été tronqué pour faciliter la lecture (3 échantillons, dont les ratios étaient >10 n'apparaissent pas).	218
Figure VI-10. Relation entre la quantité de traceur isotopique de Ca mesuré dans le compartiment extrait HNO_3 et (a) la teneur en carbone, (b) le pool de Fe extrait dans l'extraction HNO_3 et (c) représente la relation entre la contribution relative du pool extrait HNO_3 de Ca au pool E_{Ca} et le pool d'Al extrait dans l'extraction HNO_3 . Les régressions linéaires sont représentées par les droites en pointillé.	221
Figure VI-11. Relation entre le pourcentage d'argile (classe de texture $< 2 \mu\text{m}$) des échantillons de sol et la fraction isotopiquement échangeable du pool de K extrait à l'acide nitrique. La régression linéaire est représentée par la droite en pointillé.	223
Figure VI-12. Relation entre la teneur en vermiculite des sols du site de Breuil-Chenu avec (a) le ratio $E_K:\text{Exch_Conv}_K$, (b) la quantité de traceur isotopique de K retrouvé dans l'extraction nitrique et (c) la contribution relative du pool nitrique extrait de K au pool E_K . Les points et droites verticales rouges représentent respectivement la moyenne et les écart-types pour chaque horizon des 5 placettes du site de Breuil-Chenu investiguée dans cette étude (hêtre, chêne, douglas, épicéa et taillis-sous-futaie).	223
Figure VI-13. Relation entre la différence du pool isotopiquement échangeable (E_K) et le pool échangeable conventionnel de K (Exch_K) et la différence du pool de K extractible au réactif Tamm (K_{tamm}) et le pool échangeable conventionnel de K. La droite représente la régression linéaire.	224
Figure VI-14. Distribution des évolutions des taux de saturation (S/T) et des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca , Exch Conv Mg , Exch Conv K) des 33 échantillons étudiés. Les échantillons sont classés selon le critère d'évolution du taux de saturation entre les deux campagnes de prélèvement : diminution du S/T (groupe 1), pas ou peu d'évolution du S/T (groupe 2) et augmentation du S/T (groupe 3)	227
Figure VI-15. Distribution les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ($\text{Exch Conv}_{\text{Ca}}$, $\text{Exch Conv}_{\text{Mg}}$ et Exch Conv_K) et des évolutions du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange ($\text{Exch}_{\text{acidity}}$) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.	228
Figure VI-16. Distribution pour les trois groupes des évolutions des pH_{eau} et $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ des sols entre les deux campagnes.	229

Figure VI-17. Distribution les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools isotopiquement échangeables de Ca et K (E_{Ca} , E_K), du pool isotopiquement échangeable de Ca extrait par la méthode HNO_3 ($E_{Ca} - HNO_3$) et des pools de Ca, Mg et K extraits par la méthode HNO_3 entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.	231
Figure VI-18. Distribution pour les trois groupes, des évolutions de la teneur en carbone totale des sols en fonction de la profondeur entre les deux campagnes. Les sites SP57 et EPC63 (groupe 1) ont été retirés de cette figure.	232
Figure VI-19. Distribution pour les trois groupes et en fonction de la profondeur, des valeurs de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ($Exch_{Ca}$, $Exch_{Mg}$ et $Exch_K$) ainsi que du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange ($Exch_{acidity}$) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.	234
Figure VI-20. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des valeurs de pools de Ca, Mg, K, Al, Si et Na extraits par la méthode HNO_3 de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.	235
Figure VI-21. Comparaison des teneurs en soufre extractibles à l'acide nitrique et de leur évolution entre les deux campagnes de prélèvement en fonction du type de sol. Le type de sol andosol n'est représenté que par le site EPC63.	238
Figure VI-22. (a) Boxplot des ratios $E_{Ca}:Exch_Conv_{Ca}$, $E_{Ca}:Exch_Exp_{Ca}$ et $Exch_Exp_{Ca}:Exch_Conv_{Ca}$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_{Ca}) et des pools échangeables conventionnels de Ca ($Exch_{Ca}$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.	241
Figure VI-23. (a) Boxplot des ratios $E_K:Exch_Conv_K$, $E_K:Exch_Exp_K$ et $Exch_Exp_K:Exch_Conv_K$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_K) et des pools échangeables conventionnels de K ($Exch_K$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.	243
Figure VI-24. (a) Boxplot des ratios $E_{Mg}:Exch_Conv_{Mg}$, $E_{Mg}:Exch_Exp_{Mg}$ et $Exch_Exp_{Mg}:Exch_Conv_{Mg}$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_{Mg}) et des pools échangeables conventionnels de Mg ($Exch_{Mg}$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.	245
Figure VI-25. Boxplots des ratios de pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) sur les pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$) de Ca, Mg et K. L'échelle des ordonnées a été tronquée pour des raisons de lisibilité. Le nombre d'échantillons (n) est indiqué entre parenthèses.	246

Figure VI-26. Distribution des différences relatives entre les pools échangeables expérimentaux et les pools échangeables conventionnels (ratio $Exch_Exp_x:Exch_Conv_x$) de Ca et Mg en fonction des pools échangeables conventionnels. Les abscisses et ordonnées ont subi une transformation logarithmique.	247
Figure VI-27. Boxplot des ratios entre les pools isotopiquement échangeables (E_x) et les pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$ - en gris) et les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$ - en rouge) de Ca, Mg et K. L'échelle des ratios a été tronquée pour des raisons de lisibilité.	248
Figure VI-28. Comparaison entre les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) de Ca, Mg et K et les pools isotopiquement échangeables (E_x en rouge) et les pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$ en vert). Les valeurs de concentrations, exprimées en $\mu g.g^{-1}$, sont représentées sur une échelle logarithmique.	250
Figure VI-29. Distribution des ratios de pools isotopiquement échangeables (E_x) sur les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) en fonction de la fraction isotopiquement échangeable des pools de Mg et K extraits à l'acétate d'ammonium (pool - NH_4).	251
Figure VI-30. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Ca (E_{Ca}) construits à partir des données d'analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	253
Figure VI-31. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Mg (E_{Mg}) construits à partir des données d'analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	254
Figure VI-32. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de K (E_K) construits à partir des données d'analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.	255
Figure VI-33. Représentation schématique de la précision analytique en fonction de l'enrichissement.	257
Figure VII-1. Modèle conceptuel de pools biodisponibles de Ca, Mg et K synthétisant les résultats de cette étude. Les lignes en pointillées symbolise une fonction de support. Les encadrés et flèches noires symbolisent les pools et flux de cations nutritifs du modèle conceptuel actuel. Les encadrés et flèches rouges représentent les pools et flux additionnels mis en évidence dans ce projet de thèse	271

Liste des tableaux

Tableau II-1. Metadonnées des sites d'études	41-42
Tableau II-2. Récapitulatif des variables exploitées dans les différents chapitre de la thèse. Les notations utilisées par la suite dans le manuscrit sont données dans la dernière colonne où la lettre X représente le Ca, Mg ou K.	58
Tableau II-3. Limite de quantification des concentrations élémentaires dans les différents compartiments extraits, exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et en $\mu\text{g}\cdot\text{g}$ de sol sec^{-1} .	59
Tableau III-1. Statistique de base des différences relatives entre les deux dispositifs des pools de Ca, Mg et K extraits i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) dans les extractions à l'acide nitrique (HNO_3) et iii) cumulés dans la solution et les extractions à l'acétate (Solution_ NH_4). Les p-value des tests de comparaison de Wicoxon-Mann-Withney (échantillons appariés) sont données dans la dernière colonne.	87
Tableau III-2. Statistique de base des différences relatives entre les deux dispositifs des pools de Al, Fe et Si extraits i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) dans les extractions à l'acide nitrique (HNO_3) et iii) cumulés dans la solution et les extractions à l'acétate (Solution_ NH_4). Les p-value des tests de comparaison de Wicoxon-Mann-Withney (échantillons appariés) sont données dans la dernière colonne.	90
Table IV-S1 supplementary. Metadata of the soil samples.	140-141
Table IV-S2 supplementary. Chemical analysis used for the soil samples from the conventionnal dataset.	142
Table IV-S3 supplementary. Individual conventional exchangeable pools data (Exch_x) and measured isotopically exchangeable pools (E_x) for Ca, Mg and K expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.	143-146
Table IV-S4 supplementary. Individual relative contribution of the extracted-pools ($\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ and HNO_3) of Ca, Mg and K to the isotopically exchangeable pools (E_x).	147-150
Table IV-S5 supplementary. Isotopically exchangeable pools and conventional exchangeable pools calculated over the overall soil profile expressed in $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Bold "*" stands for samples where less than three layers were available for a soil profile of which stock calculation was not computed.	151
Tableau V-1. Evolutions des propriétés chimiques des 11 sites du réseau RENECOFOR exprimées par la différence entre les valeurs de la seconde campagne et de la première campagne de prélèvements. La significativité des évolutions est données par les astérisques (* p-value < 0.05, ** p-value < 0.01).	169
Tableau V-2. Valeurs des propriétés chimiques de la première campagne de prélèvement des 11 sites du réseau RENECOFOR.	185

Chapitre I

Introduction Générale

1. Importance économique, écologique et sociale des écosystèmes forestiers

En France, les terres boisées couvrent 31% du territoire métropolitain, soit 16.8 millions d'hectares en 2019 (IGN 2019). Contrairement à la tendance mondiale et notamment en Afrique et Amérique du Sud (FAO and UNEP 2020), la superficie des forêts françaises augmente à un taux de 90.0000 ha.an⁻¹ en moyenne (0.6%) depuis 1985 (IGN 2019). En termes de composition d'essences, la forêt française est principalement composée de peuplements feuillus (67% de la superficie) dont 44% sont représentés par le chêne (pédonculé, rouvre, vert et pubescent) (**Fig I-1**). En plus d'être un habitat accueillant de nombreuses biocénoses, les écosystèmes forestiers fournissent une multitude de biens, de services et de fonctions d'ordre économique (la filière forêt-bois représentant 425.000 emplois en France), sociale (*e.g.* lieu de récréation) et environnementale (*e.g.* stockage de carbone).

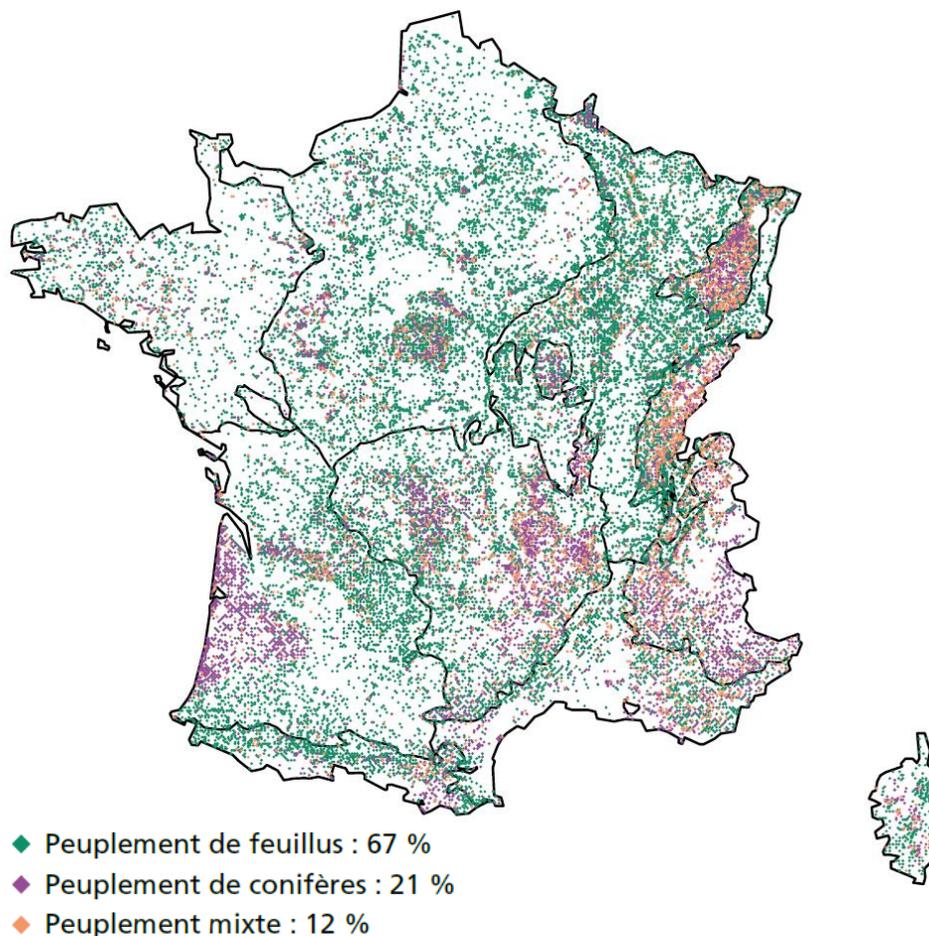


Figure I-1. Carte de répartition des formations boisées en France par type d'essence (IGN 2019).

Le XXI^{ème} siècle a vu une progression importante des préoccupations du grand public et des décideurs concernant la dégradation de l'environnement et les conséquences du changement climatique (ADEME et al. 2008; Kantar 2020). Pour faire face à ces enjeux, les Etats partis de la CCNUCC (Convention-Cadre des Nations Unies sur les Changements Climatiques) se sont engagés à réduire leurs émissions de gaz à effet de serre afin de limiter le réchauffement climatique entre 1.5°C et 2°C d'ici 2100. Dans cette optique, la France s'est fixée comme objectif de faire évoluer son mixe énergétique à l'horizon 2030-2050 : réduction de 50% de sa consommation d'énergie et une augmentation forte des énergies renouvelables. Le bois représente la première source de production primaire d'énergie renouvelable (Phan and Plouhinec 2020) (41%), et la filière bois-énergie est amenée à se développer davantage pour répondre à une demande grandissante. Dans ce cadre, la forêt est alors amenée à jouer un rôle important comme levier d'action dans l'atténuation du changement climatique.

2. Fertilité des sols forestiers, cycles biogéochimiques et nutrition des arbres

2.1. Définition du concept de fertilité du sol adapté aux écosystèmes forestiers

La fertilité d'un sol est le plus souvent définie comme la capacité du sol à produire de la biomasse (Barbier 1955; Legout et al. 2014a). La fertilité se subdivise en trois composantes étroitement liées et en interaction forte : physique (*e.g.* structure, porosité, rétention de l'eau, etc.), biologique (activité macro et micro biologique du sol) et chimique (réservoir et capacité d'un sol à fournir des nutriments aux plantes). Nous nous attacherons ici à ne décrire que la fertilité chimique, en abordant parfois les interactions avec les deux autres composantes.

La fertilité chimique des sols, héritée des concepts agronomiques, a longtemps été définie comme le réservoir de nutriments disponibles au prélèvement par la plante. Par exemple, les normes de fertilité pour les sols forestiers définies par Bonneau (1995) sont basées sur ce concept. Cette définition agronomique de la fertilité chimique n'est cependant pas adaptée aux écosystèmes forestiers qui i) se développent généralement sur des sols pauvres chimiquement, ii) dont la révolution forestière s'étend sur plusieurs décennies et iii) pour lesquels la nutrition des arbres repose sur des pools disponibles mais aussi sur un ensemble de flux d'éléments circulant au sein et

entre les compartiments de l'écosystème, appelé cycles biogéochimiques (**Fig I-2**) (Legout et al. 2020).

Dans le sol, les pools de nutriments sont renouvelés par les flux d'entrée (les apports atmosphériques et la libération des éléments par altération des minéraux du sol) et varient en fonction des flux de sorties (immobilisation nette de nutriments dans la biomasse aérienne et les pertes par lixiviation avec les eaux de drainage). La fertilité chimique des sols forestiers repose aussi sur le recyclage des éléments au sein de l'écosystème au travers du cycle biologique (prélèvement, allocation dans les organes des arbres, récréation foliaire, chute de litière et décomposition de la litière au sol), qui permet de maintenir dans le système sol-plante les nutriments disponibles pour la plante.

Les cycles biogéochimiques se divisent en deux composantes : géochimique (GEO) et biologique (BIO). Bien que ces deux composantes soient présentes dans tous les écosystèmes forestiers, leur importance relative peut varier fortement. Dans les écosystèmes où les stocks de nutriments dans le sol sont faibles et les flux d'entrées par les dépôts atmosphériques ou par l'altération minérale sont faibles, la nutrition des arbres repose essentiellement sur le maintien d'un volant de nutriments recyclés dans le système sol-plante (Legout et al. 2014a, 2020). Ce volant de nutriments recyclés par le cycle biologique peut, dans certains écosystèmes, représenter une quantité de nutriments supérieure au pool de nutriments dans le sol (van der Heijden et al. 2013a).

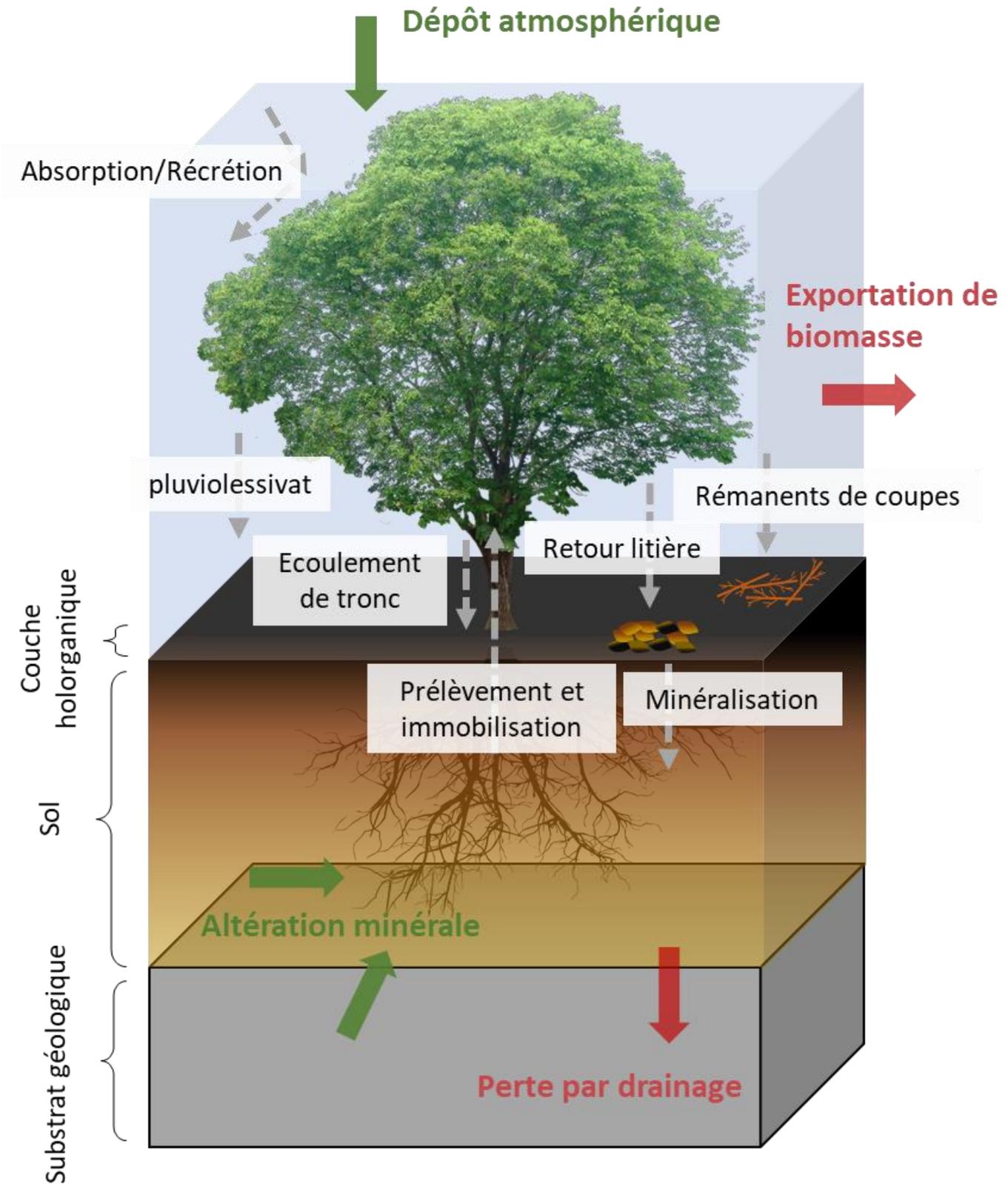


Figure I-2. Représentation schématique des flux d'entrées et de sorties des cycles biogéochimiques des éléments dans les écosystèmes forestiers (image racine ©dlnpng.com, image arbre ©favpng.com).

2.2. Rôle du magnésium, calcium et potassium dans les écosystèmes forestiers

Le calcium (Ca), magnésium (Mg) et potassium (K) jouent un rôle essentiel dans la fertilité des sols forestiers dans leurs composantes chimique, physique et biologique. Tout d'abord, ces trois éléments sont des macronutriments faisant partie des 14 éléments essentiels à la croissance des végétaux (Marschner 1995) et jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus biochimiques et physiologiques dans les végétaux (*e.g.* osmorégulation, activation enzymatique, structure, photosynthèse, etc.) (Marschner 1995; Mengel et al. 2001). Dans le sol, leur abondance sur le complexe d'échange cationique (CEC) influence directement le taux de saturation de la CEC en « bases » échangeables et participe au pouvoir tampon pH du sol. Le calcium et dans une moindre mesure le magnésium, forment en tant que cations divalents, des liaisons entre les particules de sols chargés négativement et contribuent ainsi à la structuration physique du sol. Enfin, l'abondance et la disponibilité du Ca, Mg et K favorisent l'activité biologique du sol, maillon crucial dans le recyclage des nutriments du sol (Edwards et al. 1996).

2.3. La durabilité de la fertilité des sols forestiers dans le contexte actuel de changements globaux

Les écosystèmes forestiers se développent généralement sur des sols acides et pauvres en nutriments. En France, Arrouays and Ranger (2014) ont montré que le pH et le taux de saturation en cations nutritifs (Ca, Mg et K) des sols forestiers sont en général plus bas que celui des sols agricoles. Puisque l'apport d'intrants (*i.e.* amendement et fertilisation) n'est pas une pratique courante de gestion forestière (Ranger et al. 1995), dans la majorité des écosystèmes forestiers, le renouvellement des stocks biodisponibles de Ca, Mg et K dans le sol repose uniquement sur les apports atmosphériques et l'altération des minéraux du sol, et varie en fonction du prélèvement par les racines ainsi que par les pertes par lixiviation dans les eaux de drainage (Ranger and Turpault 1999).

Dans le contexte de changements globaux, les écosystèmes forestiers font face à des contraintes extérieures croissantes qui sont de nature nutritionnelle et/ou sylvicole et/ou climatique. Dans de nombreux cas en France et dans le reste du monde, il a été montré que la fertilité chimique des sols forestiers s'est dégradée au cours du XX^{ème} siècle, sous l'influence des apports atmosphériques

élevés de soufre et d'azote. Ces dépôts ont fortement accéléré l'acidification des sols développés sur des substrats géologiques pauvres en éléments minéraux et augmenté les pertes nettes de cations nutritifs par lixiviation (Reuss and Johnson 1986; Federer et al. 1989; Landmann and Bonneau 1995).

Depuis les années 1980, en Europe et en Amérique du Nord, une forte diminution de l'acidité des dépôts atmosphériques a été observée (Zaccherio and Finzi 2007; Jonard et al. 2012; Johnson et al. 2018). Bien que certaines études aient montré des signes de restauration naturelle de la fertilité du sol (Lawrence et al. 2015), dans de nombreux cas, aucune restauration naturelle n'a été observée (Bailey et al. 2005; van der Heijden et al. 2011; Jonard et al. 2012; Johnson et al. 2018). Dans certains cas, la fertilité continue même de se dégrader (Jonard et al. 2012). Plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer ce constat. Tout d'abord, la diminution de l'acidité des dépôts atmosphériques est en grande partie due à une forte diminution des dépôts atmosphériques de soufre (Citepa 2020; EEA 2020) mais les dépôts atmosphériques d'azote, bien qu'ayant aussi diminué sur la même période, restent élevés dans de nombreux écosystèmes forestiers (Bowman et al. 2008; Bobbink et al. 2010). En parallèle, il a été montré dans de nombreuses situations que, depuis les années 1990, les apports atmosphériques en cations nutritifs majeurs (Ca, Mg et K) ont aussi diminué (Hedin et al. 1994; Likens et al. 1998; Lövblad et al. 2000). Enfin, dans certains écosystèmes forestiers, il a été démontré que les pertes nettes de cations nutritifs dans les eaux de drainage sont dues à un flux de désorption de sulfates dans le sol : le réservoir de sulfate adsorbé sur les particules de sol (constitué durant la période de forts dépôts atmosphérique de soufre) se désorbe maintenant que les apports atmosphériques de soufre ont diminué (Watmough et al. 2005; van der Heijden et al. 2011).

Par ailleurs, les politiques forestières encouragent davantage l'intensification de la sylviculture (*e.g.* exportations accrues de biomasse, raccourcissement des révolutions forestières) afin de réduire les émissions de CO₂ dans l'atmosphère (bioénergie, produits biosourcés) (Ericsson et al. 2004; Puech 2009). Cependant, dans le contexte des écosystèmes forestiers à faible fertilité minérale, par définition plus sensibles aux pressions extérieures, l'intensification de la sylviculture et l'augmentation des exportations de biomasse, en particulier via les rémanents, risquent de réduire fortement les stocks de calcium, magnésium et potassium dans le sol si les pertes nettes de nutriments ne sont pas compensées (Legout et al. 2014b). En effet, l'exportation des organes les

plus concentrés en éléments minéraux (branches, feuilles, aiguilles) (Ponette et al. 2001) constituent une perte nette substantielle pour l'écosystème. De nombreuses études ont montré que ces pratiques peuvent dégrader la fertilité des sols forestiers sur le moyen à long terme (Hornbeck et al. 1990; Walmsley and Godbold 2010; Thiffault et al. 2011; De Oliveira Garcia et al. 2018).

Dans ce contexte, le maintien des fonctions et services (*e.g.* piégeage de carbone, production de bois, qualité de l'eau) assurés par les écosystèmes forestiers est incertaine et représente aujourd'hui une préoccupation majeure pour les gestionnaires forestiers (van der Heijden et al. 2014a). A titre d'exemple, Jonard et al. (2015) ont mis en évidence une dégradation de la nutrition en phosphore, calcium et magnésium des hêtraies d'Europe. La question du devenir de ces écosystèmes forestiers dans les prochaines décennies est une préoccupation majeure pour l'ensemble de la filière forêt-bois.

Il est donc aujourd'hui essentiel de mieux comprendre le fonctionnement des cycles biogéochimiques des nutriments dans les écosystèmes forestiers, de comprendre et prédire l'évolution de la fertilité chimique des sols au cours du temps, et ainsi préconiser aux gestionnaires forestiers des pratiques assurant la durabilité de ces écosystèmes.

3. Biodisponibilité des cations nutritifs: définition actuelle et méthodes de mesures

3.1. Définition et modèle conceptuel agronomique

La très grande majorité des cations nutritifs Ca, Mg et K nécessaires à la croissance et au développement des arbres sont prélevés par les racines à partir des réservoirs du sol. Dans la forme la plus simplifiée du concept de biodisponibilité, les formes de stockage des nutriments sont classées en deux catégories : assimilables directement par les plantes ou non assimilables (**Fig.I-3**). Dans le sol, les cations nutritifs (Ca^{2+} , Mg^{2+} et K^{+}) sont prélevés par les racines dans la phase liquide et leur transport jusqu'à la surface des racines est assuré d'une part, par le flux de masse d'eau résultant de la transpiration et d'autre part, par diffusion (Barber 1995). Selon ce premier concept, l'ensemble des cations nutritifs présents dans la solution du sol représente ainsi le pool de nutriments directement assimilables par les plantes (pool biodisponible) sur des échelles de temps court, mais ne représente qu'une très faible fraction des réservoirs totaux en nutriments du sol. De

ce constat découle la nécessité de prendre en compte les flux et mécanismes de réapprovisionnement du pool de nutriments directement assimilables par les plantes.

Jusqu'à présent les concepts de biodisponibilité ont été essentiellement formalisés dans le domaine agricole. Dans ce concept, le pool biodisponible et la biodisponibilité se déclinent en fonction de trois facteurs (Beckett and White 1964; Fardeau 2000; Dalal 2005) :

- Le facteur intensité, qui représente le pool de nutriments directement « absorbable » par la plante (i.e. la concentration du nutriment dans la solution de sol) ;
- Le facteur quantité, qui représente le réservoir de nutriments dans le sol qui peut être mobilisé et donc être disponible au prélèvement par la plante ;
- Le « pouvoir tampon » exprimerait alors la capacité de la phase solide du sol à maintenir le facteur intensité constant lorsque la plante prélève les nutriments dans la solution.

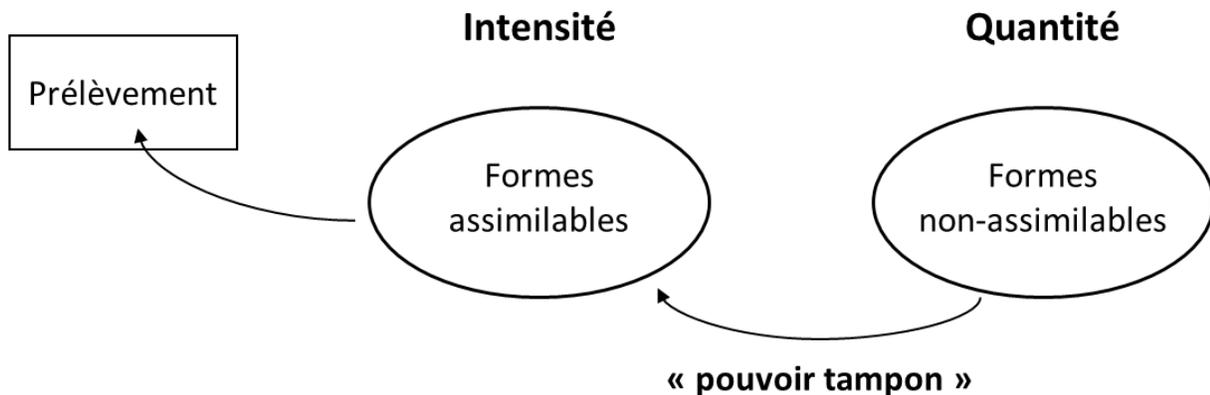


Figure I-3. Représentation schématique du concept de biodisponibilité dans sa forme la plus simplifiée.

3.2. Adaptation de la définition de biodisponibilité aux écosystèmes forestiers

Le pool biodisponible dans le sol est le plus fréquemment défini dans la littérature comme l'ensemble des nutriments mobilisables sur la vie d'une plante (Barber 1995). La notion de biodisponibilité quant à elle est définie comme l'ensemble des processus, mécanismes et flux qui rendent les nutriments disponibles à la plante. En s'appuyant sur cette définition issue de

l'agronomie, la caractérisation et la quantification de la biodisponibilité des nutriments dans les écosystèmes forestiers s'avère être plus complexe. En effet, l'ensemble des nutriments mobilisables pour un système à révolution annuel ou infra-annuel (comme la plupart des systèmes agricoles), ne sera pas le même que pour des systèmes pluri-décennaux à centennaux comme les écosystèmes forestiers. Dans les systèmes annuels, négliger les apports de Ca, Mg et K par l'altération minérale ou via les dépôts atmosphériques ne conduirait pas à une sous-estimation significative de la quantité totale de nutriments disponibles puisque ces flux annuels peuvent souvent être faibles comparés aux stocks de cations échangeables dans le sol. Sur l'ensemble de la vie d'un peuplement forestier, des flux d'altération et/ou de dépôts atmosphériques, mêmes faibles, peuvent, une fois cumulés, représenter une quantité de Ca, Mg et K plusieurs fois supérieure aux stocks de cations échangeables, notamment dans les écosystèmes forestiers à faible fertilité minérale. Ainsi, le « pouvoir tampon » du sol, tel que proposé ici, engloberait d'avantage de sources potentielles lorsqu'appliqué à des systèmes à plus longue échelle temporelle. Bien que ces sources concourent simultanément au « pouvoir tampon » du sol, elles possèdent des cinétiques différentes de libération de Ca, Mg et K.

3.2.1. La biodisponibilité à géométrie variable

Une autre particularité des écosystèmes forestiers comparés aux systèmes agricoles annuels est que la biodisponibilité des nutriments est un concept à géométrie variable. Tout d'abord, en fonction de l'autécologie des essences en place, le volume de sol prospecté par les racines et donc les sources de nutriments prospectées ne seront pas les mêmes. Ainsi des essences avec des systèmes racinaires pivotant comme le chêne accéderont plus facilement et abondamment aux ressources en eau et en nutriments dans les horizons les plus profonds du profil de sol en comparaison à des essences à système racinaire traçant comme l'épicéa commun.

On peut distinguer plusieurs types d'eau dans le sol en fonction de la porosité concernée et du potentiel hydrique associé aux différentes tailles des pores. Les vitesses de transfert, les temps de résidence de l'eau (**Fig I-4**), les propriétés des particules de sol en présence ainsi que les processus en jeu peuvent également largement différer en fonction de la taille des pores. La composition chimique peut donc être très différente en fonction du type d'eau du sol (**Fig I-5**). Ainsi, les

différences de capacité des essences à prélever les différents types d'eau du sol peuvent aussi induire une différence de biodisponibilité.

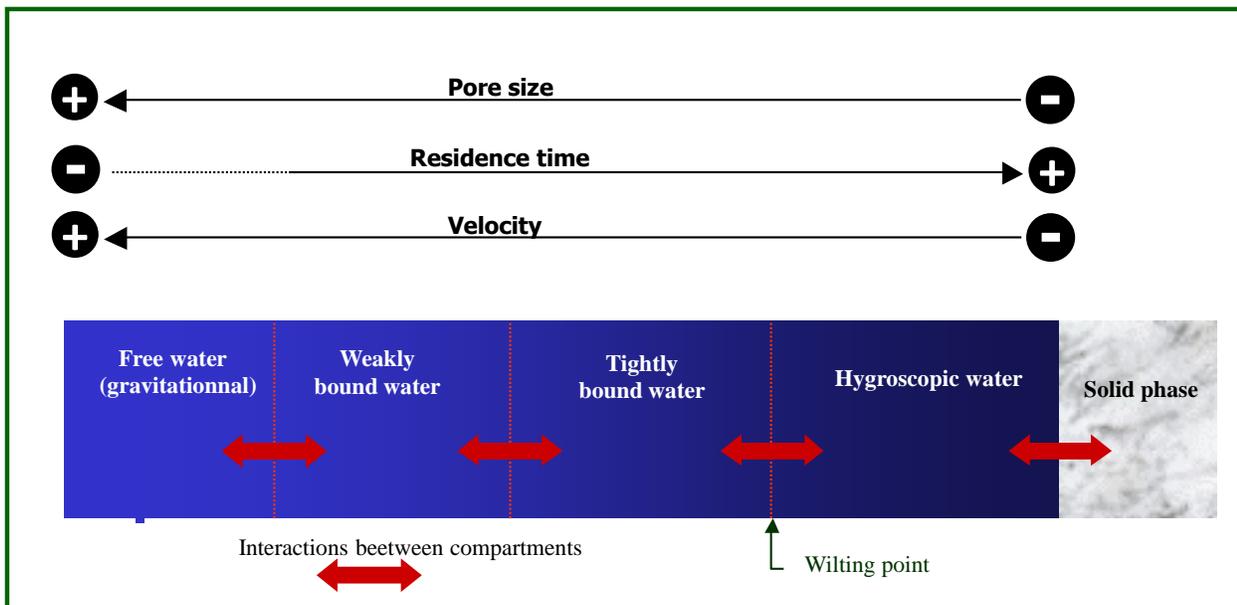


Figure I-4. Représentation schématique des types d'eau dans le sol (adapté de Marques et al. (1996).

La biodisponibilité peut aussi dépendre très fortement de l'état hydrique du sol. Tout d'abord, dépendant de cet état hydrique, les différents types d'eau du sol seront plus ou moins disponibles et plus ou moins privilégiés par les arbres pour le prélèvement en eau et en nutriments. Ensuite, au cours de la saison, l'évapotranspiration peut amener à vider les réserves utiles en eau des horizons de surface. Le prélèvement en eau, potentiellement en nutriments et donc les pools biodisponibles, se « déplacent » alors vers les horizons plus profonds. Certaines essences sont aussi capables d'exploiter les ressources nutritives dans les horizons asséchés par le processus de « hydraulic lift » par lequel de l'eau prélevée dans les horizons profonds est redistribuée dans les horizons secs pour solubiliser et mobiliser les nutriments (Zapater et al. 2011).

Enfin, les sols forestiers sont très hétérogènes le long d'un axe vertical, avec généralement une diminution des teneurs en matière organique depuis l'horizon holorganique jusqu'aux horizons minéraux profonds (e.g. altérite). Le fonctionnement biogéochimique de l'écosystème via le recyclage biologique est en partie à l'origine de cette hétérogénéité verticale retrouvée également

pour les cations nutritifs. Le type d'écosystème en présence (BIO ou GEO) pourra ensuite moduler la distribution verticale.

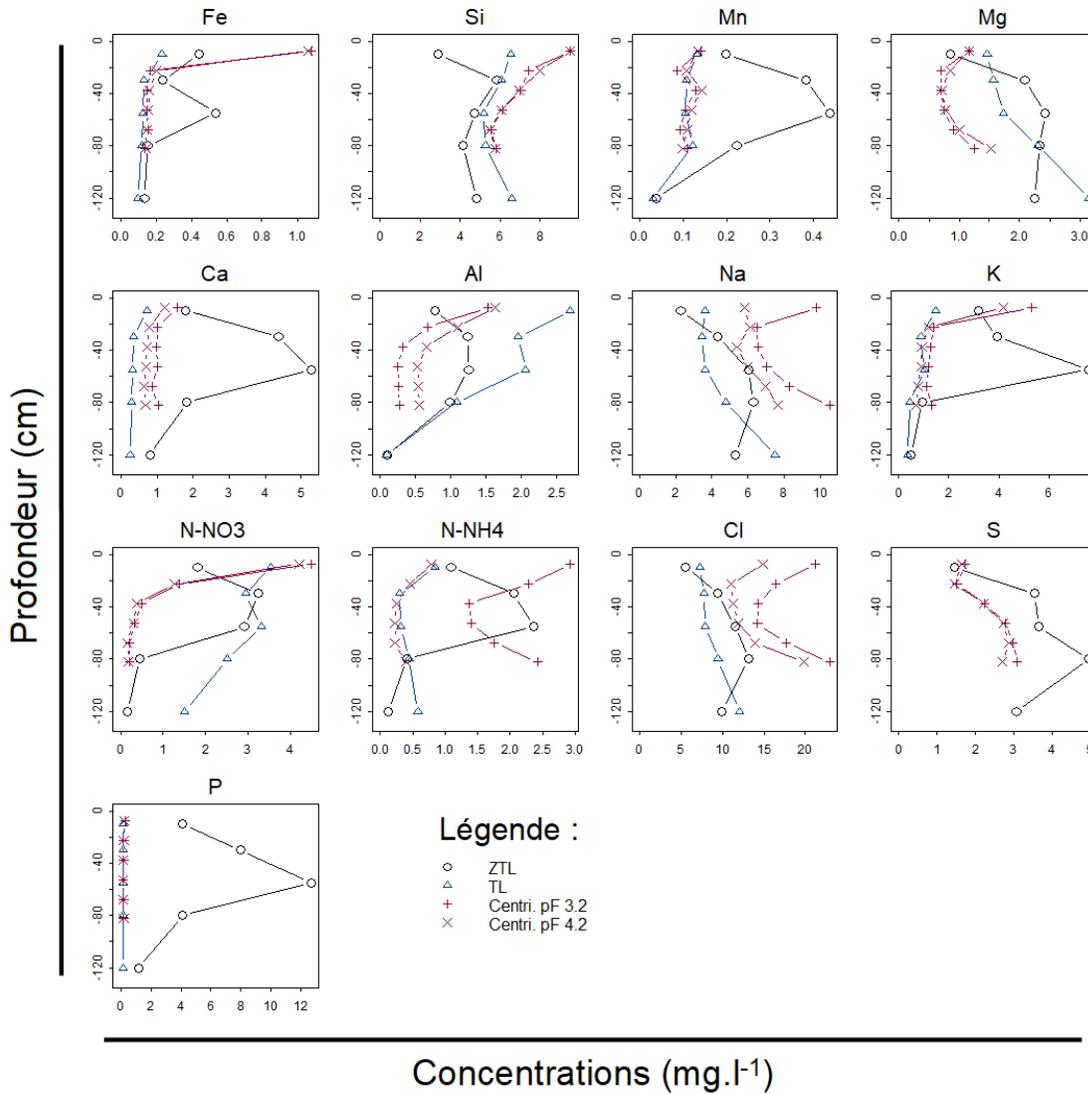


Figure I.5. Evolution des concentrations en éléments chimiques des solutions de sol en fonction de la profondeur et du type d'eau récolté (la figure est tirée de la thèse de Legout Arnaud, 2008).

Enfin, la géométrie du concept de biodisponibilité dans les écosystèmes forestiers peut aussi varier au cours du temps, du fait de la longueur des cycles de production forestière (révolutions), en fonction de différents facteurs internes et externes tels que le changement de régime des dépôts

atmosphériques, l'intensification de la sylviculture (*e.g.* exportation accrue de biomasse), les éventuels apports d'amendement ou de fertilisant, l'acidification des sols ou encore, le changement climatique.

3.2.2. Les réservoirs de Ca, Mg et K dans les sols et leurs contributions à la biodisponibilité

Les cations nutritifs calcium, magnésium et potassium sont présents dans les sols forestiers sous cinq formes majeures : (i) ions dans la solution du sol, (ii) ions adsorbés à la surface des particules solides, échangeables et, (iii) fixés, (iv) immobilisés dans la biomasse vivante ou morte du sol et (v) dans la structure des minéraux de la phase solide.

3.2.2.1. Les cations « échangeables »

Les ions calcium, magnésium et potassium présents dans la solution du sol interagissent avec les constituants qui développent une charge négative à leur surface (matières organiques, phyllosilicates). Les ions Ca, Mg et K chargés positivement, sont adsorbés par des liaisons électrostatiques faibles à la surface des particules minérales de manière réversible et non spécifique. Dans les écosystèmes forestiers, les ions Ca, Mg et K adsorbés sur les sites d'échanges sont considérés comme étant très facilement mobilisables et contribuent ainsi fortement au maintien du facteur intensité (**Fig I-3**). L'ion potassium, quant à lui, présente la particularité de s'adsorber en outre sur des sites d'échanges spécifiques sur les bords altérés d'argiles 2:1 altérés (frayed edge sites : FES). Cette adsorption spécifique est liée à l'espace réduit entre les feuillets où le faible rayon d'hydratation de l'ion K lui permet de s'insérer, contrairement aux ions Ca et Mg (Sparks 1987). L'ion K adsorbé sur ces sites spécifiques contribue aussi au « pouvoir tampon » du sol mais avec des cinétiques différentes (cinétique plus lente, nécessitant des conditions particulières) (Fine et al. 1941; Moritsuka et al. 2004).

Les cations adsorbés s'échangent avec les cations présents dans la solution, mais la sélectivité de l'échange entre deux cations varie en fonction de la nature de l'échangeur et du couple de cations s'échangeant à sa surface. Pour la plupart des minéraux développant sur leurs surfaces externes directement accessibles, une capacité d'échange cationique, l'affinité des cations majeurs décroît selon la séquence $Al^{3+} >> Ca^{2+} \geq Mg^{2+} > K^+ > Na^+$. Certains composés organiques du sol peuvent développer une charge négative (groupes fonctionnels carboxyle, hydroxyle et hydroxy phénolique

des acides organiques) variable car dépendante du pH. Les sites portés par les constituants organiques présentent une affinité pour l'ion Ca plus élevée que pour les ions Mg et le K. L'adsorption de l'ion Mg sur les composés organiques s'effectue par des liaisons faibles de type électrostatique (Salmon 1964; Sentenac and Grignon 1981). La contribution des matières organiques à la CEC des sols est importante. Thompson et al. (1989) a montré que la part de la CEC associée à la MO dans l'horizon A était de 14-56 %. Van der Heijden et al. (2014b) a montré que cette part dans un Alocrisol atteignait 74 % dans l'horizon [0-5 cm] et jusqu'à 40 % dans l'horizon 25-40 cm. Les pools d'ions Ca et Mg adsorbés par les constituants organiques de sol contribuent aussi au pouvoir tampon du sol, cependant les cinétiques en jeu sont encore mal connues. De plus, l'ion Ca peut aussi former des complexes avec des molécules organiques (liaison forte).

3.2.2.2. *Les cations adsorbés mais non échangeables*

L'ion K est présent entre les feuillets d'argiles 2:1 où il est adsorbé et retenu par des liens électrostatiques forts. On parle alors de potassium non échangeable ou fixé car le rayon d'hydratation des autres cations est trop grand pour leur permettre de diffuser et s'échanger avec l'ion K dans l'espace interfoliaire (Sparks 1987; Gäbler et al. 2007). Toutefois, l'ion K non échangeable peut devenir échangeable lorsque les feuillets des argiles s'écartent au fur et à mesure de l'altération. Celle-ci peut être induite par les conditions de la solution (*e.g.* concentration de l'ion K, acidité, présence de complexant organique) (Tan 1978; Moritsuka et al. 2004), qui peuvent être en partie contrôlées par la présence et l'activité de racines (Pradier et al. 2017). De nombreuses études ont d'ailleurs investiguées la contribution du potassium non échangeable à la croissance de plantes cultivées (Kolodny and Robbins 1940). Par exemple, dans une étude menée au sud du Brésil sur la contribution du potassium non échangeable à la nutrition de plantes (Steiner and Lana 2018), 6 différentes plantes ont successivement été cultivées dans 9 sols différents et selon deux niveaux de fertilité (avec et sans fertilisant). Les résultats ont montré que pour les sols non fertilisés, la contribution du K non échangeable au prélèvement des plantes variait de 50 à 73 %. D'autres études ont montré que le degré de fixation/libération du K non échangeable est très variable et pouvait dépendre de nombreux facteurs biotiques (type de plante, sécrétion d'exsudats racinaires, microorganisme solubilisant le potassium) et des facteurs abiotiques (type d'argile, densité de charge, degré d'humectation, température, concentration de potassium dans la solution de sol

rhizosphérique) (Fine et al. 1941; Mikloš and Čičel 1993; Moritsuka et al. 2004). Ainsi, bien que le K non échangeable ne contribue pas directement aux équilibres géochimiques avec la solution du sol, ce pool peut être facilement mobilisable et contribuer au pouvoir tampon du sol (Bilias and Barbayiannis 2018). Cependant la quantification du pool non échangeable de K, sa disponibilité et les cinétiques d'échanges ne sont pas encore bien estimés et compris.

3.2.2.3. *Stockage dans l'humus*

Le Ca et le Mg se trouve dans les litières provenant de la chute des organes végétaux où ils réintègrent le sol lors de la décomposition de la matière organique. Ce flux fait partie du recyclage biologique des nutriments mais n'est pas en tant que tel une entrée de nutriments dans le système. Cependant, la compréhension des formes de stockage du Ca et Mg dans l'humus ainsi que leur biodisponibilité est encore incomplète. Le K ne rentre pas dans la structure des végétaux et est moins retenu dans les matières organiques que le Ca ou Mg. Il se trouve ainsi plus rapidement libéré dans la solution du sol et est plus sujet au risque de lixiviation.

3.2.2.4. *Stockage dans la biomasse microbienne du sol*

Les microorganismes des sols jouent un rôle important dans le recyclage des nutriments. Par exemple, l'utilisation des microorganismes capables de solubiliser les minéraux porteurs de K par des sécrétions d'acides organiques ont été étudiés et envisagés comme alternative à la fertilisation (Meena et al. 2014; Ahmad et al. 2016; Yaghoubi Khanghahi et al. 2019). Des études récentes ont mis en évidence un stockage substantiel de K dans la biomasse microbienne du sol. Lorenz et al. (2010) ont estimé ce pool au moyen d'une extraction-fumigation par le chloroforme et leurs résultats ont montré que ce pool microbien de K représentait 30% du pool échangeable pour trois sols agricoles à textures contrastées. D'autres études ont confirmé l'importance potentielle de cette source microbienne de K, équivalent à 40% du pool échangeable sur les sols étudiés (Kohei et al. 2014; van der Heijden et al. 2014b). Par contre, très peu d'études ont été menées sur la quantification du Ca et Mg microbiens. Van der Heijden et al. (2014b) dans une étude sur les entrées de Ca et Mg ont néanmoins déterminé par fumigation la part de traceur intégré dans la biomasse microbienne dans un sol forestier. Ils ont ainsi pu montrer que 17 ± 6 % du ^{26}Mg et 0 % du ^{44}Ca apportés étaient localisées dans la biomasse microbienne 2 ans après l'apport. Ces résultats

suggèrent que le pool de Mg microbien peut être substantiel, ce qui ne semble pas être le cas du Ca.

Bien que ce pool microbien semble pouvoir contribuer au « pouvoir tampon » du sol, trop peu d'études ont été menées sur ce sujet pour pouvoir quantifier exactement leur contribution à la nutrition minérale du végétal.

3.2.2.5. *Stockage dans les minéraux du sol*

Le Ca et Mg se retrouvent dans de nombreux minéraux comprenant les minéraux primaires carbonatés, sulfatés, phosphatés (dolomite, gypse, epsomite, magnésite, apatite etc.), silicatés (olivine, mica, hornblende, pyroxène, feldspaths plagioclase, etc.), les minéraux secondaires argileux (vermiculite, montmorillonite, illite, chlorite etc.) et peuvent se retrouver associés à des minéraux amorphes (oxydes d'aluminium et de fer). Le K est le 7^{ème} ou 8^{ème} élément le plus abondant dans la croûte terrestre (Schroeder 1979; Wedepohl 1995). Malgré cette large abondance, 90-98 % du potassium est incorporé dans la structure cristalline des minéraux et n'est, par conséquent, pas disponible directement à la nutrition des plantes (Sparks and Huang 1985). Les principaux minéraux primaires porteurs de K sont les feldspaths potassiques (microcline, orthoclase) et micas (biotite, muscovite, phlogopite) qui en contiennent entre 8-13%. Comme pour le Ca et Mg, le K se trouve également dans des minéraux secondaires argileux (illite, vermiculite).

Au cours du temps, différents processus d'altération (*e.g.* hydrolyse, acidolyse, acidocomplexolyse) permettent de libérer les éléments sous forme aqueuse (et donc assimilables) dans la solution du sol. Outre les processus susmentionnés, des processus biologiques concourent également à l'altération des minéraux : la plante est capable de créer des conditions favorisant l'altération par exsudation d'acides organiques, extrusion de protons, déplacement de l'équilibre causé par le prélèvement (Hinsinger 1998). Il a aussi été montré que cette source minérale peut directement contribuer à la nutrition de la plante à travers l'association symbiotique avec des hyphes mycorhiziens et des racines (Jongmans et al. 1997; Wallander 2006), court-circuitant ainsi la solution du sol. Dans les sols tempérés, l'abondance du K et sa présence dans de nombreux minéraux font que les flux de K provenant de l'altération minérale est plus importante que les flux de Ca et Mg dans les sols des écosystèmes forestiers (Legout et al. 2020).

Bien que l'altération minérale ait été longuement étudiée, la quantification des flux d'altération et la distinction de la contribution des différents processus (biologique vs chimique) restent difficile (Klaminder et al. 2011; Futter et al. 2012). Si les sources minérales sont classiquement considérées comme non disponibles, car conceptualisés pour des systèmes annuels (*i.e.* système agricole), elles font partie intégrante du facteur quantité du modèle conceptuel de biodisponibilité et participent au « pouvoir tampon » que nous avons défini pour les sols forestiers.

3.2.3. Schéma conceptuel de la biodisponibilité du Ca, Mg et K dans les sols forestiers

Tout comme il a été nécessaire d'adapter le concept agronomique de fertilité chimique du sol aux écosystèmes forestiers, l'ensemble de ces éléments montre le besoin de préciser la définition de la biodisponibilité issue du domaine agronomique, afin de la rendre adéquate aux écosystèmes forestiers. En effet, puisque la définition du pool biodisponible prend en compte la durée de vie de la plante dans les écosystèmes forestiers, la bonne compréhension du pool biodisponible ne peut se limiter à la simple mesure d'un réservoir biodisponible ou assimilable à un instant t mais doit aussi prendre en compte l'ensemble des processus et flux de recyclage, d'apport et d'exportation de nutriments dans l'écosystème. Comme dans le domaine agronomique, la biodisponibilité repose sur un pool de nutriments directement assimilable par les plantes (facteur intensité), sur un pool de nutriments stocké dans le sol sous une forme non assimilable (facteur quantité) et sur l'ensemble des processus qui transforment les nutriments de leur forme non assimilable à assimilable (pouvoir tampon). Le facteur quantité est composé de nombreuses formes différentes de stockage mais peut être divisé en deux catégories : les pools source/puits et les pools source (**Fig I-6**). Dans les sols forestiers, et pour les cations nutritifs, les pools de cations échangeables dans le sol et le stockage de cations dans la couche holorganique composent tout deux le pool source/puits mobilisable sur des échelles de temps court. La particularité des écosystèmes forestiers à recycler biologiquement les nutriments au sein du système sol-plante permet de les stocker temporairement. Les vitesses de libération des cations nutritifs des différentes formes de stockage dans les sols conduit à considérer la contribution de ces différentes formes de stockage à la biodisponibilité sur une échelle de temps allant du court (<1an) au long terme (<10ans).

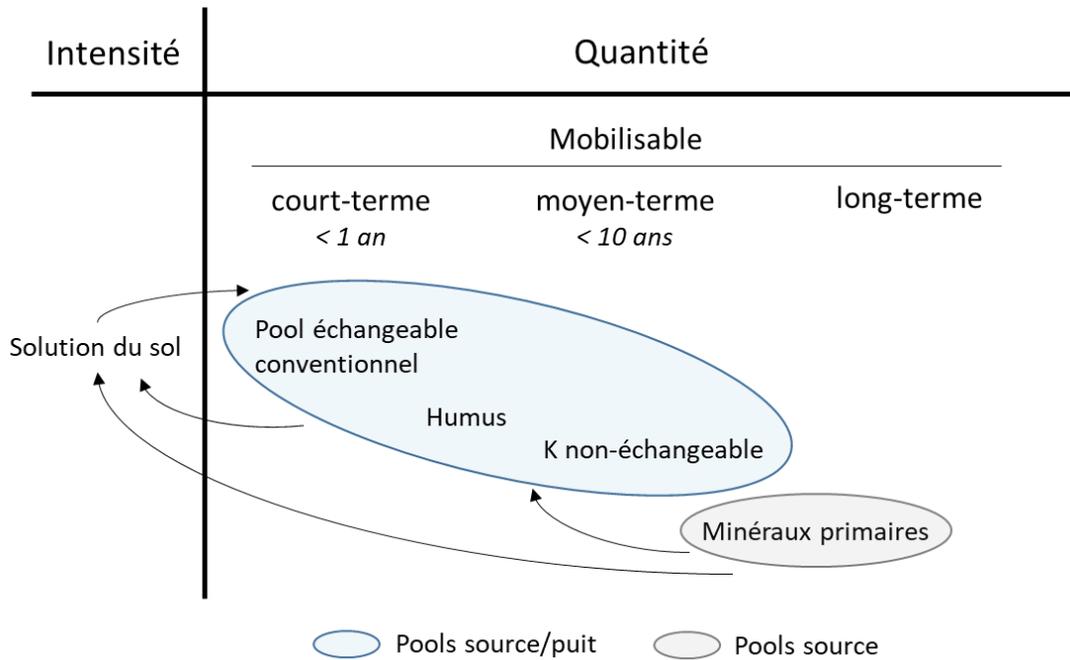


Figure I-6. Représentation schématique du modèle conceptuel de biodisponibilité adapté aux écosystèmes forestiers.

4. Les outils conventionnels d'étude de la fertilité des sols forestiers et leurs limites

Dans les études de la fertilité des sols forestiers, dans les modèles conceptuels et numériques des cycles biogéochimiques dans les écosystèmes forestiers (Bormann and Likens 1967; Likens et al. 1977; Zasoski 1979; Ranger and Turpault 1999), les pools de Ca, Mg et K biodisponibles sont représentés par la quantité présente en solution et échangeable ; les pools de cations échangeables étant classiquement mesurés par une extraction avec un sel concentré (Thomas 1982; Baize 2018). Cependant, cette mesure n'apporte qu'une vision partielle de ce que la plante est capable de prélever (Fardeau 2000). En effet, la quantification des pools biodisponibles par les méthodes d'extraction est difficile car elle nécessiterait de définir et d'utiliser un réactif chimique possédant le même pouvoir d'extraction que le système racinaire d'une plante et des microorganismes associés. Des études ont par ailleurs mis en évidence des différences importantes entre pool de cations échangeables et pool de cations assimilables, comme l'attestent les nombreuses études

passées et présentes sur la contribution du K non échangeable à la nutrition des plantes (Kolodny and Robbins 1940; Meyer and Jungk 1993; Steiner and Lana 2018).

A ce jour, malgré de nombreuses études détaillées, notre compréhension du fonctionnement des cycles biogéochimiques du Ca, Mg et K est encore incomplète. De nombreuses études ont mis en évidence des discordances entre différentes approches de diagnostic de la fertilité des sols. Ces études ont notamment mis en évidence des différences entre l'évolution mesurée des pools de cations échangeables (mesure conventionnelle entre deux dates) et celle prédite par des modèles théoriques d'évolution de Ca, Mg et K échangeables. Par exemple, le bilan entrées-sorties (différence entre les flux d'entrées et les flux de sorties dans le sol) de Mg calculé pour une sapinière dans les Vosges (van der Heijden et al. 2011) suggère une perte nette de Mg échangeable de l'ordre de $-0.8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$, alors que la mesure des pools échangeables à deux dates différentes montre une augmentation nette des stocks échangeables de Mg d'environ $+1.5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$. De plus, la compréhension de la relation entre les pools échangeables de Mg, Ca et K dans le sol, la nutrition des arbres et des indicateurs de la productivité forestière est encore aujourd'hui incomplète (Lucash et al. 2012; van der Heijden et al. 2013b; van Sundert et al. 2020; Hansson et al. 2020; Legout et al. 2020). Par exemple, Lucash et al. (2012) ont étudié les liens entre pools de cations échangeables et concentrations foliaires pour plusieurs essences dans le nord-est des Etats-Unis. Leurs résultats n'ont montré aucune corrélation entre les teneurs en cations échangeables du sol et les concentrations foliaires des éléments correspondants dans des écosystèmes forestiers à faible fertilité. Sur le site expérimental de Breuil-Chenue (Bourgogne, FR), malgré des stocks de Ca et Mg échangeables extrêmement faibles (environ $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de Ca et $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de Mg sur le profil 0-70 cm), aucun signe de dépérissement (production de biomasse, concentrations foliaires, jaunissement foliaires...) n'a été observé dans une plantation productive de hêtres de 35 ans. Ces observations posent donc la question suivante : comment des peuplements forestiers survivent et maintiennent une bonne productivité alors que les ressources échangeables du sol sont très faibles (Legout et al. 2014a) ?

Les discordances entre les méthodes conventionnelles dans l'estimation de l'évolution des pools de cations échangeables et entre les propriétés chimiques des sols et nutrition des arbres mettent en évidence les limites de notre compréhension des cycles biogéochimiques du Ca, Mg et K et

suggèrent que les arbres ont accès à des sources de Ca, Mg et K qui ne sont actuellement pas ou incomplètement prises en compte.

5. Les outils isotopiques pour quantifier les pools biodisponibles et étudier les processus de biodisponibilité

5.1. Approche par dilution isotopique : principe général

La dilution isotopique a été décrite comme étant l'approche la plus adéquate pour estimer les pools de nutriments du sol en équilibre géochimiques avec la solution (appelé par la suite pools isotopiquement échangeables) (Hamon et al. 2002; Ebelhar 2008). Le pool isotopiquement échangeable représente la quantité d'un ion adsorbé sur les constituants solides du sol qui peut s'échanger rapidement avec des ions du même élément dans la solution du sol, afin de pallier à la perte de ces ions causée par le prélèvement de la plante, par lixiviation ou d'autres flux de sorties.

La technique de dilution isotopique (exemple illustré ici pour le potassium) repose sur la mise en contact d'une solution de traçage avec un échantillon de sol. La solution de traçage est construite à partir de l'élément d'intérêt (ici le potassium) dont la composition isotopique a été artificiellement modifiée (*i.e.* potassium traceur - enrichie en isotopique lourd ^{41}K) pour être significativement différente de la composition isotopique naturelle (**Fig I-7a**). Au cours du temps et des réactions d'équilibre, un mélange isotopique s'opère entre le K-traceur et le K-natif du sol, et l'enrichissement en ^{41}K diminue dans la solution de traçage (diminution du rapport isotopique $^{41}\text{K}/^{39}\text{K}$, d'où l'appellation « dilution isotopique ») (**Fig I-7 b**). Au bout d'un certain temps, un équilibre isotopique s'installe dès lors où l'évolution du rapport isotopique en solution est stable (**Fig I-7c**). A cet équilibre, la quantité de K du sol en équilibre avec le traceur isotopique est proportionnelle à la dilution isotopique qui s'est opérée au cours du temps. Cette quantité est appelée le pool isotopiquement échangeable de K et est noté E_K (E_{Ca} et E_{Mg} pour le Ca et Mg).

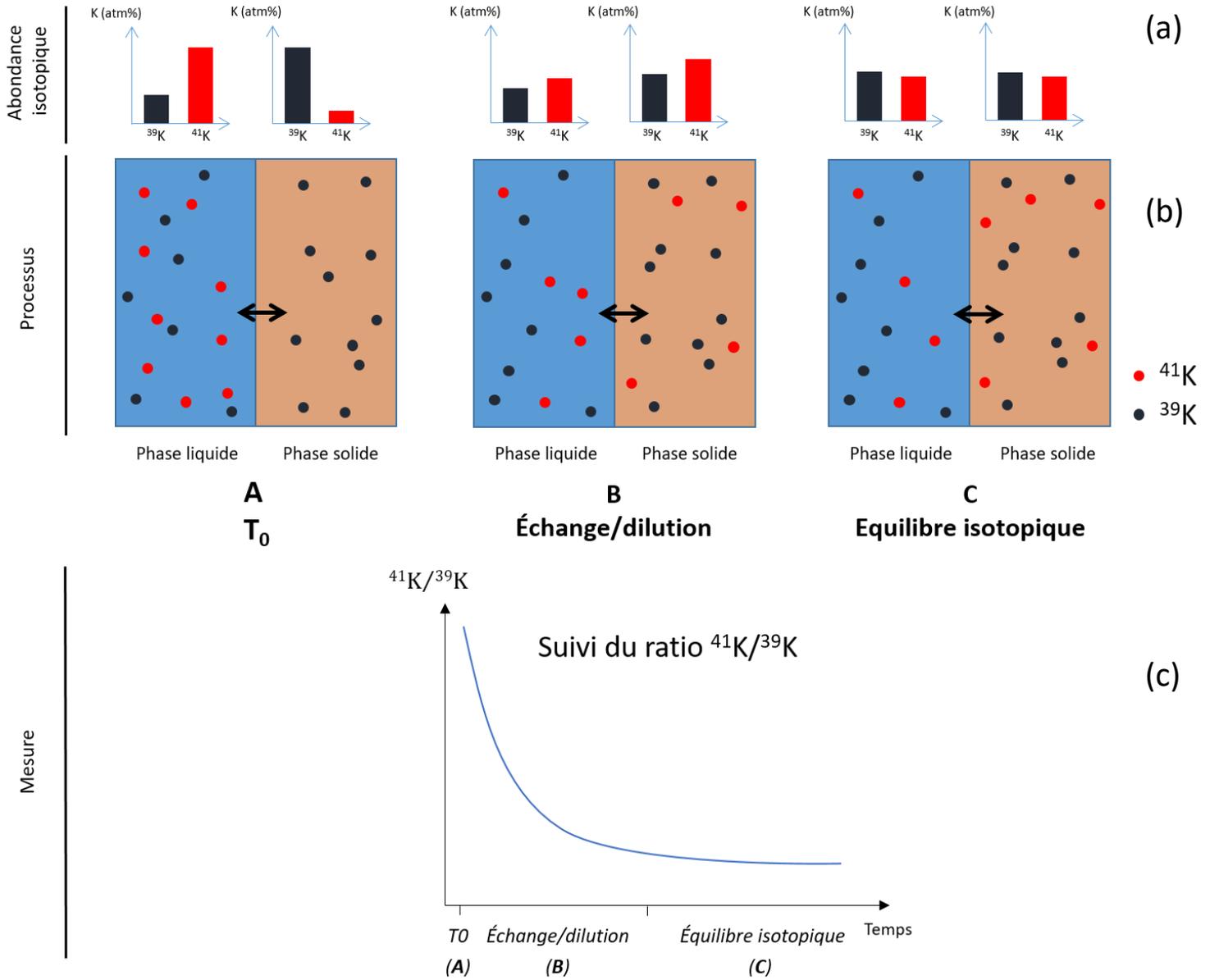


Figure I-7. Représentation schématique du principe de dilution isotopique et de la mesure des pools isotopiquement échangeables. (a) Les « barplots » représentent l'évolution de la composition isotopique en ^{41}K et ^{39}K dans chaque compartiment. (b) Les compartiments bleu et brun représentent respectivement la phase liquide (solution de traçage) et la phase solide (échantillon de sol). (c) Le graphique représente l'évolution du rapport isotopique $^{41}\text{K}/^{39}\text{K}$ théorique mesurée au court du temps.

5.2. Utilisation des radioisotopes

De nombreuses études ont utilisé cette approche pour étudier le phosphore assimilable du sol en utilisant le radioisotope ^{32}P (Fardeau 1993; Achat et al. 2016) ou le potassium aux moyens des radioisotopes ^{42}K (Tendille et al. 1956; Masozera and Bouyer 1971), ^{43}K (Fardeau et al. 1979) et ^{40}K (Graham and Fox 1971; Fardeau et al. 1984). Sur les 27 sols investigués dans les différentes études du K précédemment citées, les pools isotopiquement échangeables de K étaient supérieurs aux pools échangeables mesurés par une extraction chimique pour 23 d'entre eux, soit pour 85% des sols étudiés et ces différences sont parfois très élevés. Par exemple, Masozera and Bouyer (1971) ont mesuré les pools isotopiquement échangeables du K sur des sols tropicaux et ont montré qu'ils étaient de 12-117 % plus importants que les pools échangeables. De plus, il a été montré que des plants de Ray-grass ne prélevaient leur K que dans les pools isotopiquement échangeables (Fardeau et al. 1979). Bien que la méthode de dilution ait été moins utilisée pour le Ca, des résultats similaires ont été mis en évidence en utilisant le radioisotope ^{45}Ca (Blume and Smith 1954; Newbould 1963; Reeve and Sumner 1969). Sur les 34 sols investigués dans ces différentes études, les pools isotopiquement échangeables de Ca étaient plus importants que les pools échangeables conventionnels pour 20 d'entre eux (soit ~60 % des sols), tandis que pour 6 sols, les pools isotopiquement échangeables étaient inférieurs aux pools échangeables conventionnels et pour 14 sols, les différences n'étaient pas significatives. Enfin, pour le Mg, la seule étude à notre connaissance ayant mesuré le pool isotopiquement échangeable par le radioisotope ^{27}Mg (Graham and Silva 1979) n'a pas cherché à le comparer au pool échangeable.

L'utilisation de radioisotopes présente toutefois une limite eu égard (i) au temps de demi-vie des radioisotopes utilisés, notamment du P et K (*e.g.* 14.3 jours pour le ^{32}P , 12.3 jours pour le ^{42}K) qui limite souvent les expérimentations longues et (ii) à l'encadrement strict de ces expériences qui nécessitent des installations appropriées. Ainsi, si les études précédentes ont permis de mettre en exergue la contribution d'autres pools source/puits de Ca et K à l'équilibre géochimique avec la solution du sol que les pools échangeables conventionnels, ces dernières n'ont pas cherché à identifier plus précisément les phases du sol qui contribuent directement au pool assimilable de Mg, Ca et K.

5.3. Utilisation des isotopes stables

L'approche par dilution isotopique peut être réalisée en utilisant des isotopes stables artificiellement enrichis. Par exemple, l'estimation des pools isotopiquement échangeables des éléments traces métalliques (*e.g.* Cd, Co, Ni) est réalisée en utilisant les isotopes stables de ces éléments (Hamon et al. 2002; Nolan et al. 2004; Gäbler et al. 2007; Sterckeman et al. 2009).

Plus récemment, deux études conduites sur un sol forestier du site expérimental de Breuil-Chenue (Bourgogne) ont utilisé les isotopes stables ^{44}Ca et ^{26}Mg pour déterminer les pools isotopiquement échangeables de Ca et Mg et développés plusieurs approches expérimentales (van der Heijden et al. 2017, 2018). Dans une première expérimentation de marquage isotopique, un échantillon de sol provenant de l'horizon moyen [40-70cm] d'un aloctisol sableux a été marqué en pulvérisant une solution de traçage contenant du $^{44}\text{Ca}^{2+}$ et $^{26}\text{Mg}^{2+}$. Des extractions successives de sol ont montré que les traceurs isotopiques du Ca et du Mg ont diffusé dans des phases autres que les phases échangeables (extraites avec NH_4OAc 1M). Ces phases non cristallines extraites par le réactif de TAMM (oxalate d'ammonium + acide oxalique tamponné à pH 3 et à l'obscurité) et par de l'acide nitrique (HNO_3 1M) ont contribué aux réactions d'équilibre solide-liquide sur des temps courts. Cependant, les auteurs ont soulevé la question de la forte concentration en Ca et Mg de la solution de traçage qui a pu générer un forçage et une plus grande diffusion dans les phases non cristallines qu'en conditions naturelles. Suite à cette étude, deux protocoles expérimentaux ont été testés pour mesurer les pools isotopiquement échangeables du Ca, Mg et K dans des conditions plus proches des concentrations « naturelles » de la solution du sol du site de Breuil-Chenue (van der Heijden et al. 2018). Les résultats ont confirmé la contribution directe des phases non cristallines à l'équilibre solide-liquide. Plusieurs hypothèses ont été formulées quant à l'identification des formes isotopiquement échangeables stockées dans ces phases non cristallines et des mécanismes sous-jacents :

- La corrélation entre les pools labile-TAMM de Ca et Mg avec les concentrations élémentaires de Al, Fe et P, pourraient être due à l'adsorption de Ca et Mg sur les oxydes-hydroxydes de Fe et Al de manière directe ou indirecte au moyen de ponts phosphates ou d'acides organiques ;
- De la même manière pour le K, la corrélation entre pool labile-TAMM et les teneurs en Si et Al pourrait être due à l'adsorption du K sur des sites spécifiques sur des aluminosilicates amorphes ;

- La plus forte contribution des pools TAMM (extraction oxalate d'ammonium + acide oxalique) et HNO_3 (1M) dans l'horizon de surface [0-15cm] souligne l'influence potentielle des composés organiques sur le stockage du Ca et secondairement du Mg.

6. Hypothèses et objectifs de la thèse

Les discordances entre les différentes approches conventionnelles pour étudier la fertilité chimique des sols forestiers et son évolution au cours du temps met en évidence les limites de nos connaissances sur la biodisponibilité des cations nutritifs dans le sol, ainsi que les limites des méthodes conventionnelles utilisées. Ces dernières donnent une vision incomplète des pools de cations nutritifs disponibles aux arbres à court terme. De nouveaux outils et de nouvelles approches sont aujourd'hui nécessaires pour améliorer notre compréhension des sources contribuant directement à la biodisponibilité des cations nutritifs, les outils isotopiques et l'approche par dilution isotopique se révélant notamment très prometteurs. L'utilisation des isotopes stables ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K pour la mesure des pools isotopiquement échangeables du Ca, Mg et K a pu être validée dans l'étude de cas du site de Breuil-Chenu (van der Heijden et al. 2018). Ces résultats et ceux de précédentes études suggèrent que les pools isotopiquement échangeables pour ces trois éléments sont plus grands que les pools échangeables mesurés par une analyse de sol conventionnelle.

A partir de la littérature scientifique existante, plusieurs hypothèses ont été posées :

1. Les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K dans les sols forestiers, en équilibre géochimique avec la solution du sol et jouant le double rôle de source et puits de cations (biodisponibles à court terme), sont plus élevés que les pools échangeables tels que mesurés par méthodes conventionnelles (extraction avec un sel concentré, couramment considérée pour évaluer la fertilité chimique des sols forestiers) ;
2. Les minéraux secondaires amorphes et/ou mal cristallisés du sol contribuent à la biodisponibilité des cations nutritifs en jouant le rôle de phases porteuses de Ca, Mg et K isotopiquement échangeables ;
3. La mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K est un indicateur pertinent pour étudier l'évolution de la fertilité chimique des sols forestiers au cours du temps.

L'objectif principal de ce projet de thèse est d'approfondir nos connaissances sur la biodisponibilité du calcium, magnésium et potassium dans les sols forestiers. Pour cela, ce projet se focalise sur la

quantification des pools biodisponibles (source/puits) de Ca, Mg et K dans les sols par l'approche par dilution isotopique. Ce projet s'appuie sur un large jeu d'échantillons de sol (n= 177) couvrant une large gamme de conditions édaphiques, climatiques et sylvicoles pour lesquels une base de données d'analyses conventionnelles du sol est disponible. Ce projet de thèse s'attèle à répondre aux objectifs suivants :

1. Comparer différentes approches expérimentales d'équilibre géochimique et isotopique entre les phases liquide et solide d'un sol, dédiées à la quantification des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K afin de définir le dispositif expérimental le plus pertinent.
2. Quantifier les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K dans les échantillons de sols sélectionnés pour ce projet et comparer ces pools isotopiquement échangeables aux pools échangeables mesurés conventionnellement.
3. Identifier la nature des phases solides du sol jouant le rôle de support aux pools isotopiquement échangeables.
4. Etudier l'évolution des pools biodisponibles de Ca, Mg et K au cours du temps en comparant les approches conventionnelles et isotopiques et caractériser les mécanismes de ces évolutions.
5. Investiguer la possibilité de quantifier les pools isotopiquement échangeables par des analyses élémentaires de sol, moins « complexes » et onéreuses que l'approche isotopique.

Références

- Achat DL, Pousse N, Nicolas M, et al (2016) Soil properties controlling inorganic phosphorus availability: general results from a national forest network and a global compilation of the literature. *Biogeochemistry* 127:255–272. doi: 10.1007/s10533-015-0178-0
- ADEME, Boy D, RCB Conseil (2008) Représentations sociales du changement climatique .
- Ahmad M, Nadeem SM, Naveed M, Zahir ZA (2016) Potassium-solubilizing bacteria and their application in agriculture. In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. Springer India, New Dehli, pp 293–313
- Arrouays D, Ranger J (2014) Quality of forest soils facing global changes. *Rev For Fr* LXVI:15–20. doi: <https://doi.org/10.4267/2042/56261>
- Bailey SW, Horsley SB, Long RP (2005) Thirty Years of Change in Forest Soils of the Allegheny Plateau, Pennsylvania. *Soil Sci Soc Am J* 69:681–690. doi: 10.2136/sssaj2004.0057
- Baize D (2018) Guide des analyses en pédologie, 3e édition.
- Barber SA (1995) Soil nutrient bioavailability : a mechanistic approach. Wiley
- Barbier G (1955) Essai de définition de la fertilité de la terre. *Économie Rural* 23:3–6. doi: 10.3406/ecoru.1955.1359
- Beckett PHT, White RE (1964) Studies on the phosphate potentials of soils: Part III: The pool of labile inorganic phosphate. *Plant Soil* 21:253–282.
- Bilias F, Barbayiannis N (2018) Contribution of non-exchangeable potassium on its quantity-intensity relationships under K-depleted soils. *Arch Agron Soil Sci* 64:1988–2004. doi: 10.1080/03650340.2018.1472376
- Blume JM, Smith D (1954) Determination of exchangeable calcium and cation-exchange capacity by equilibration with Ca-45. *Soil Sci* 77:9–18.
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, et al (2010) Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: A synthesis. *Ecol Appl* 20:30–59. doi: 10.1890/08-1140.1
- Bonneau M (1995) Fertilisation des forêts dans les pays tempérés : théorie, bases du diagnostic, conseils pratiques, réalisation expérimentales. Ecole nationale du génie rural, des eaux et des forêts, Nancy
- Bormann F., Likens G. (1967) Nutrient Cycling. *Science* (80-) 155:424–429.
- Bowman WD, Cleveland CC, Halada L, et al (2008) Negative impact of nitrogen deposition on soil buffering capacity. *Nat Geosci* 1:767–770. doi: 10.1038/ngeo339
- Citepa (2020) Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France - Format Secten.
- Dalal RC (2005) Plant nutrients: Intensity, Quantity, and Buffer Power. In: Lal R (ed) *Encyclopedia of Soil Science*, Second Edition. CRC Press; 2 edition, p 2060

- De Oliveira Garcia W, Amann T, Hartmann J (2018) Increasing biomass demand enlarges negative forest nutrient budget areas in wood export regions. *Sci Rep* 8:1–7. doi: 10.1038/s41598-018-22728-5
- Ebelhar SA (2008) Labile pool. In: Chesworth W (ed) *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Dordrecht, pp 425–426
- Edwards CA, Clive A, Bohlen PJ (1996) *Biology and ecology of earthworms.*, 3rd edn. Springer Netherlands
- EEA (2020) *Air quality in Europe*.
- Ericsson K, Huttunen S, Nilsson LJ, Svenningsson P (2004) Bioenergy policy and market development in Finland and Sweden. *Energy Policy* 32:1707–1721. doi: 10.1016/S0301-4215(03)00161-7
- FAO and UNEP (2020) *The State of the World's Forests 2020*. Rome
- Fardeau JC (2000) Estimation de la biodisponibilité de éléments nutritifs contenus dans les produits organiques résiduels. *Ing - E A T, IRSTEA Ed* 2000 32:15–28.
- Fardeau JC (1993) Le phosphore assimilable des sols: sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agron EDP Sci* 13:317–331.
- Fardeau JC, Hétiér JM, Jappe J (1979) Potassium assimilable du sol: identification au comportement des ions isotopiquement diluables. *CR AcadSci* 288:1039–1042.
- Fardeau JC, Jappe J, Quemener J (1984) Détermination du coefficient d'utilisation du potassium d'un engrais potassique : emploi de ^{40}K . *Agron EDP Sci* 4:663–669.
- Federer CA, Hornbeck JW, Tritton LM, et al (1989) Long-Term Depletion of Calcium and Other Nutrients in Eastern US Forests. *Environ Manage* 13:593–601.
- Fine LO, Bailey TA, Truog E (1941) Availability of Fixed Potassium as Influenced by Freezing and Thawing. *Soil Sci Soc Am J* 5:183–186. doi: 10.2136/sssaj1941.036159950005000c0031x
- Futter MN, Klaminder J, Lucas RW, et al (2012) Uncertainty in silicate mineral weathering rate estimates: source partitioning and policy implications. *Environ Res Lett* 7:024025. doi: 10.1088/1748-9326/7/2/024025
- Gäbler HE, Bahr A, Heidkamp A, Utermann J (2007) Enriched stable isotopes for determining the isotopically exchangeable element content in soils. *Eur J Soil Sci* 58:746–757. doi: 10.1111/j.1365-2389.2006.00863.x
- Graham E., Silva C. (1979) Labile pools and distribution coefficients for soil calcium, magnesium and potassium determined with exchange equilibria and radioisotopes. *Soil Sci* 128:17–22.
- Graham ER, Fox RL (1971) Tropical soil potassium as related to labile pool and calcium exchange equilibria Calcium Soil analysis. *Soil Sci* 3:318–322.
- Hamon RE, Bertrand I, McLaughlin MJ (2002) Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry. *Aust J Soil Res* 40:1371–1381.

- Hansson K, Laclau JP, Saint-André L, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 1: Common soil chemical analyses were poor predictors of stand productivity across a wide range of acidic forest soils. *For Ecol Manage* 461:117843. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117843
- Hedin LO, Granat L, Likens GE, et al (1994) Steep declines in atmospheric base cations in regions of Europe and North America. *Nature* 367:351–354.
- Hinsinger P (1998) How do plant roots acquire mineral nutrients ? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Adv Agron* 64:225–265.
- Hornbeck JW, Smith CT, Martin QW, et al (1990) Effects of intensive harvesting on nutrient capitals of three forest types in New England. *For Ecol Manage* 30:55–64.
- IGN (2019) Le mémento - Inventaire Forestier.
- Johnson J, Graf Pannatier E, Carnicelli S, et al (2018) The response of soil solution chemistry in European forests to decreasing acid deposition. *Glob Chang Biol* 24:3603–3619. doi: 10.1111/gcb.14156
- Jonard M, Fürst A, Verstraeten A, et al (2015) Tree mineral nutrition is deteriorating in Europe. *Glob Chang Biol* 21:418–430. doi: 10.1111/gcb.12657
- Jonard M, Legout A, Nicolas M, et al (2012) Deterioration of Norway spruce vitality despite a sharp decline in acid deposition: A long-term integrated perspective. *Glob Chang Biol* 18:711–725. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02550.x
- Jongmans AG, van Breemen N, Lundström U, et al (1997) Rock-eating fungi. *Nature* 389:682–683. doi: 10.1038/39493
- Kantar (2020) Special Eurobarometer 501 : Attitudes of Europeans towards the Environment. Belgium
- Klaminder J, Lucas RW, Futter MN, et al (2011) Silicate mineral weathering rate estimates: Are they precise enough to be useful when predicting the recovery of nutrient pools after harvesting? *For Ecol Manage* 261:1–9. doi: 10.1016/j.foreco.2010.09.040
- Kohei Y, Hiroki H, Mizuhiko N, et al (2014) Estimation of microbial biomass potassium in paddy field soil. *Soil Sci Plant Nutr* 60:512–519.
- Kolodny L, Robbins W. (1940) Availability of fixed potassium to plants. *Soil Sci* 49:303–313.
- Landmann G (Guy), Bonneau M (1995) Forest decline and atmospheric deposition effects in the French mountains. Springer
- Lawrence GB, Hazlett PW, Fernandez JJ, et al (2015) Declining Acidic Deposition Begins Reversal of Forest-Soil Acidification in the Northeastern U.S. and Eastern Canada. *Environ Sci Technol* 49:13103–13111. doi: 10.1021/acs.est.5b02904
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2014a) Chemical fertility of forest soils : basic concepts. *Rev For Française LXVI*:21–32.
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 2: Towards redefining the concept by untangling the role of the different components of biogeochemical cycling. *For Ecol Manage* 461:117844. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117844

- Legout A, Richter C, Pousse N, et al (2014b) Compensating for the export of nutrients and restoration of degraded soils.
- Likens GE, Bormann FH, Pierce RS, et al (1977) Biogeochemistry of a Forested Ecosystem. Springer US, New York, NY
- Likens GE, Driscoll CT, Buso DC, et al (1998) The biogeochemistry of calcium at Hubbard Brook. *Biogeochemistry* 41:89–173.
- Lorenz N, Verdell K, Ramsier C, Dick R. (2010) A Rapid Assay to Estimate Soil Microbial Biomass Potassium in Agricultural Soils *Soil Biology & Biochemistry*. *Soil Sci Soc Am J* 74:512–516. doi: 10.2136/sssaj2008.0391
- Lövblad G, Persson C, Roos E (2000) Deposition of Base Cations in Sweden. Stockholm - Sweden
- Lucash MS, Yanai RD, Blum JD, Park BB (2012) Foliar Nutrient Concentrations Related to Soil Sources Across a Range of Sites in the Northeastern United States Citation Details. *Soil Sci Soc Am J* 76:674–683.
- Marques R, Ranger J, Gelhaye D, et al (1996) Comparison of chemical composition of soil solutions collected by zero-tension plate lysimeters with those from ceramic-cup lysimeters in a forest soil. *Eur J Soil Sci* 47:407–417. doi: 10.1111/j.1365-2389.1996.tb01414.x
- Marschner H (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd edn. Academic Press, London
- Masozera C, Bouyer S (1971) Potassium et calcium labiles dans quelques types de sols tropicaux. In: *Sur l'emploi des radioisotopes et des rayonnements dans la recherche sur les relations sol-plante*. Vienne, p 12
- Meena VS, Maurya BR, Verma JP (2014) Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiol Res* 169:337–347. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.003
- Mengel K, Kirkby EA, Kosegarten H, Appel T (2001) Principles of Plant Nutrition. Springer Netherlands, Dordrecht
- Meyer D, Jungk A (1993) A new approach to quantify the utilization of non-exchangeable soil potassium by plants. *Plant Soil* 149:235–243. doi: 10.1007/BF00016614
- Mikloš D, Čičel B (1993) Development of Interstratification in K- and NH₄-Smectite from Jelšovský Potok (Slovakia) Treated by Wetting and Drying. *Clay Miner* 28:435–443. doi: doi:10.1180/claymin.1993.028.3.07
- Moritsuka N, Yanai J, Kosaki T (2004) Possible processes releasing nonexchangeable potassium from the rhizosphere of maize. *Plant Soil* 258:261–268. doi: 10.1023/B:PLSO.0000016556.79278.7f
- Newbould P (1963) Relationship between isotopically exchangeable calcium and absorption by plants. *J Sci Food Agric* 14:311–319. doi: 10.1002/jsfa.2740140506
- Nolan AL, Yibing A, Ae M, et al (2004) Measurement of labile Cu in soil using stable isotope dilution and isotope ratio analysis by ICP-MS. *Anal Bioanal Chem* 380:789–797. doi: 10.1007/s00216-004-2816-6

- Phan C, Plouhinec C (2020) Chiffres clés des énergies renouvelables. France
- Ponette Q, Ranger J, Ottorini JM, Ulrich E (2001) Aboveground biomass and nutrient content of five Douglas-fir stands in France. *For Ecol Manage* 142:109–127. doi: 10.1016/S0378-1127(00)00345-5
- Pradier C, Hinsinger P, Laclau JP, et al (2017) Rainfall reduction impacts rhizosphere biogeochemistry in eucalypts grown in a deep Ferralsol in Brazil. *Plant Soil* 414:339–354. doi: 10.1007/s11104-016-3107-7
- Puech J (2009) Mise en valeur de la forêt française et développement de la filière bois. Paris
- Ranger J, Colin-Belgrand M, Nys C (1995) Le cycle biogéochimique des éléments majeurs dans les écosystèmes forestiers. Importance dans le fonctionnement des sols. *Etude Gest des Sols* 2:110–134.
- Ranger J, Turpault MP (1999) Input–output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management. *For Ecol Manage* 122:139–154. doi: 10.1016/S0378-1127(99)00038-9
- Reeve NG, Sumner ME (1969) Determination of exchangeable calcium in soils by isotopic dilution. *Agrochimophisica* 1:13–18. doi: ISSN : 0302-7112
- Reuss JO, Johnson DW (1986) Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters. Springer New York, New York, NY
- Salmon RC (1964) Cation exchange reactions. *J Soil Sci* 15:273–283. doi: 10.1111/j.1365-2389.1964.tb02225.x
- Schroeder D (1979) Structure and weathering of potassium containing minerals. In: Proceedings of the 11th Congress. International Potash Institute, pp 43–63
- Sentenac H, Grignon C (1981) A Model for Predicting Ionic Equilibrium Concentrations in Cell Walls. *Plant Physiol* 68:415–419.
- Sparks DL (1987) Potassium Dynamics in Soils. In: Stewart BA (ed) *Advances in Soil Science*, Advance in. Springer, New York, NY, pp 1–63
- Sparks DL, Huang PM (1985) Physical Chemistry of Soil Potassium. In: Munson RD (ed) *Potassium in Agriculture*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp 201–276
- Steiner F, Lana M do C (2018) Contribution of non-exchangeable K in soils from Southern Brazil under potassium fertilization and successive cropping. *Rev Cienc Agron* 49:547–557. doi: 10.5935/1806-6690.20180062
- Sterckeman T, Carignan J, Srayeddin I, et al (2009) Availability of soil cadmium using stable and radioactive isotope dilution. *Geoderma* 153:372–378. doi: 10.1016/j.geoderma.2009.08.026
- Tan KH (1978) Effects of humic and fulvic acids on release of fixed potassium. *Geoderma* 21:67–74.
- Tendille C, Grenier de Ruere J, Barbier G (1956) Echanges isotopiques du potassium peu mobile des sols. *CR AcadSci* 243:87–89.

- Thiffault E, Hannam KD, Paré D, et al (2011) Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environ Rev* 19:278–309. doi: 10.1139/a11-009
- Thomas GW (1982) Exchangeable Cations. In: Page A., Miller R., Keeney D. (eds) *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, 2nd editio. Agronomy, A Series of Monographs, Vol.9, Part 2; American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 159–166
- Thompson M., Zhang H, Kazemi M, Sandor J. (1989) Contribution of organic matter to cation exchange capacity and specific surface area fractionated soil materials. *Soil Sci* 148:67–87.
- van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150
- van der Heijden G, Henneron L, Dreyer E (2014a) La gestion de la fertilité des sols forestiers est-elle à un tournant ? Une conclusion transitoire. *Rev For Française* LXVI 4:641–644.
- van der Heijden G, Legout A, Mareschal L, et al (2017) Filling the gap in Ca input-output budgets in base-poor forest ecosystems: The contribution of non-crystalline phases evidenced by stable isotopic dilution. *Geochim Cosmochim Acta* 209:135–148. doi: 10.1016/j.gca.2017.04.018
- van der Heijden G, Legout A, Nicolas M, et al (2011) Long-term sustainability of forest ecosystems on sandstone in the Vosges Mountains (France) facing atmospheric deposition and silvicultural change. *For Ecol Manage* 261:730–740. doi: 10.1016/j.foreco.2010.12.003
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2013a) Assessing Mg and Ca depletion from broadleaf forest soils and potential causes - A case study in the Morvan Mountains. *For Ecol Manage* 293:65–78. doi: 10.1016/j.foreco.2012.12.045
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2014b) The dynamics of calcium and magnesium inputs by throughfall in a forest ecosystem on base poor soil are very slow and conservative: Evidence from an isotopic tracing experiment (^{26}Mg and ^{44}Ca). *Biogeochemistry* 118:413–442. doi: 10.1007/s10533-013-9941-2
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2013b) Tracing and modeling preferential flow in a forest soil - Potential impact on nutrient leaching. *Geoderma* 195–196:12–22. doi: 10.1016/j.geoderma.2012.11.004
- van Sundert K, Radujković D, Cools N, et al (2020) Towards comparable assessment of the soil nutrient status across scales—Review and development of nutrient metrics. *Glob Chang Biol* 26:392–409. doi: 10.1111/gcb.14802
- Wallander H (2006) External mycorrhizal mycelia - the importance of quantification in natural ecosystems. *New Phytol* 171:240–242. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01803.x
- Walmsley JD, Godbold DL (2010) Stump harvesting for bioenergy - A review of the environmental impacts. *Forestry* 83:17–38. doi: 10.1093/forestry/cpp028

- Watmough SA, Aherne J, Alewell C, et al (2005) Sulphate, nitrogen and base cation budgets at 21 forested catchments in Canada, the United States and Europe. *Environ. Monit. Assess.* 109:1–36.
- Wedepohl K. (1995) The composition of the continental crust. *Geochim Cosmochim Acta* 59:1217–1232. doi: 10.1016/0016-7037(95)00038-2
- Yaghoubi Khangahi M, Pirdashti H, Rahimian H, et al (2019) The role of potassium solubilizing bacteria (KSB) inoculations on grain yield, dry matter remobilization and translocation in rice (*Oryza sativa* L.). *J Plant Nutr* 42:1165–1179. doi: 10.1080/01904167.2019.1609511
- Zaccherio MT, Finzi AC (2007) Atmospheric deposition may affect northern hardwood forest composition by altering soil nutrient supply. *Ecol Appl* 17:1929–1941.
- Zapater M, Hossann C, Bréda N, et al (2011) Evidence of hydraulic lift in a young beech and oak mixed forest using ¹⁸O soil water labelling. *Trees - Struct Funct* 25:885–894. doi: 10.1007/s00468-011-0563-9
- Zasoski R. (1979) Principles of Forest soil fertility. In: *Forest Fertilization Conference* . Alderbrook Inn Union , Washington, pp 2–9

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Ce chapitre décrit successivement, les sites d'études retenus, le matériel et les méthodes utilisés pour quantifier les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K ainsi que les outils analytiques communs à toute la thèse.

1. Site d'étude

1.1. Sélection des sites d'études

Vingt-six sites répartis sur quatre pays ont été sélectionnés parmi différents réseaux d'expérimentation et de suivis sur le long terme d'écosystèmes forestiers (**Fig. II-1**):

11 sites français du réseau RENECOFOR niveau 3 (campagne 1 et 2) ;

4 sites suédois du réseau ICP-Integrated Monitoring ;

10 sites expérimentaux des réseaux ANAEE et IN SYLVA ;

Le site du Luquillo Critical Zone Observatory à Puerto Rico (Etats-Unis).

Les sites ont été sélectionnés dans le but de couvrir une large gamme de sols acides (pH_{eau} de l'horizon de surface <6), non hydromorphes, répartis dans des contextes climatiques, édaphiques (notamment leur fertilité chimique) et de couverts forestiers contrastés. La sélection des sites s'est focalisée sur les sols acides parce qu'ils représentent une large proportion des écosystèmes forestiers mondiaux et parce que les forêts développées sur sol acide et pauvre en nutriments sont par définition plus sensibles aux perturbations extérieures. Le maintien de la fertilité chimique sur le long terme de ces écosystèmes est une préoccupation forte pour la gestion forestière dans un contexte de changement global et de pressions accrues sur les écosystèmes forestiers (Achat et al. 2015; Leys et al. 2016). Les réseaux équipés pour un suivi intensif ont spécifiquement été retenus, car ils permettent d'accéder à des données sur la dynamique temporelle des cycles biogéochimiques. De plus, la sélection a été opérée en tenant compte de la disponibilité des échantillons archivés et de l'accessibilité aux bases de données associées (*e.g.* propriétés physico-chimiques des sols). Chaque placette est dominée par une essence forestière. Mis à part les sites suédois (situés dans des réserves naturelles), les peuplements forestiers de chaque placette sont gérés en suivant les plans de gestion forestière locaux. Les sites sont composés de placettes témoins n'ayant pas reçu de fertilisation, excepté à Itatinga (Brésil) où une fertilisation de fond ($300\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ NPK – 10:20:20) est pratiquée sur chaque parcelle à chaque rotation sylvicole (de façon similaire aux plantations commerciales).

Lorsque plusieurs profils de sol ont été échantillonnés au sein d'une même placette, un échantillon composite a été construit à partir des répliques. Pour limiter le nombre d'échantillons de sol par placette lorsque plus de 5 couches de sol avaient été échantillonnées mais dans un souci de couvrir l'ensemble du profil de sol, soit 5 couches de sol ont été sélectionnées parmi les couches existantes, soit des échantillons composites ont été établis en regroupant plusieurs couches de sol.

Suite à cette sélection, la base de données est composée de 177 échantillons individuels et regroupe 5 grands types de sol (**Tabl. II-1**) : Cambisol (9 sites), Podzol (8 sites), Andosol (2 sites), Luvisol (5 sites) et Ferralsol (2 sites), 11 essences : *Abies alba* Mill. (2 sites), *Picea abies* (L) H. Karst (8 sites), *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (6 sites), *Pinus sylvestris* L. (1 site), *Fagus sylvatica* L. (5 sites), *Quercus robur* L. (1 site), *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (4 sites), forêt mixte *Quercus robur* et *petraea* (1 site), *Eucalyptus spp.* L'Hér. (1 site) et *Dacryodes excelsa* Vahl. (1 site) et 3 zones climatiques : tempérée, tropicale et boréale



▲ Réseau RENECOFOR ▲ ▲ ▲ Infrastructure AnaEE – IN-SYLVA

Figure II-1. Localisation des sites expérimentaux

Site/réseau	Pays	Localisation	Information additionnelle	Nombre de parcelle	ID	Essence	Région climatique	Nombre de couche par horizon	Type de sol (FAO)
AnaEE - Breuil-Chenué experimental site	France	N 47°18' E 4°5'	Douglas plot	5	DOU	Pseudotsuga menziesii	Tempéré	5	Alumic cambisol
			Beech plot		HET	Fagus sylvatica			
SOERE - F-ORE-T - Fougères experimental site	France	N 48°23' W 1°8'	Oak plot	1	CHE	Quercus petraea	Tempéré	5	Dystric cambisol
			Spruce plot		EPI	Picea abies			
IN-SYLVA-France - Douglas experimental network	France	N 49°9' E 0°4'	Montreui-sur-Auge	4	MsA	Pseudotsuga menziesii	Tempéré	3	Eutric cambisol
		N 49°44' E 2°9'	Conty		CONTY			3	Eutric cambisol
		N 45°45' E 2°54'	Allagnat		ALL			2	Andosol
		N 47°4' E 3°36'	Montapas		MONT			5	Eutric pseudoluvisol
Renecofor - ICP-Forest level II	France	N 50°12' E 3°44'	Deux campagnes de prélèvement	1	C1 CHP59	Quercus robur	Tempéré	5	Stagnic luvisol
		N 47°34' E 1°15'		1	C1 CHS41	Quercus petraea		Stagnic luvisol	
		N 48°24' E 2°44'		1	C1 CPS77	Quercus robur petraea		Cambic podzol	
		N 49°54' E 4°48'		1	C1 EPC08	Picea abies		Cambic podzol	
		N 45°44' E 3°0'		1	C1 EPC63	Picea abies		Mollic andosol	
		N 45°47' E 1°41'		1	C1 EPC87	Picea abies		Humic Cambisol	
		N 44°5' E 3°41'		1	C1 HET30	Fagus sylvatica		Cambic podzol	

Tableau II-1. Metadonnées des sites d'études

Site/réseau	Pays	Localisation	Information additionnelle	Nombre de parcelle	ID	Essence	Région climatique	Nombre de couche par horizon	Type de sol (FAO)
Renecofof - ICP-Forest level II	France	N 43°9' W 0°39'		1	C1 HET64	Fagus sylvatica	Tempéré	5	Eutric cambisol
		N 48°51' E 7°47'		1	C1 PS67a	Pinus sylvestris			Cambic podzol
		N 45°24' E 6°8'		1	C1 SP38	Abies alba			Dystric cambisol
		N 48°36' E 7°9'		1	C1 SP57	Abies alba			Dystric cambisol
AnaEE - Compaction experimental network	France	N 49°06' E 5°04'	Clermont en Argonne	1	Clermont	Pseudotsuga menziesii	Tempéré	7	Neoluvisol
		N 48°29' E 6°42'	Azerailles	1	Azerailles				
Vauxrenard experimental site	France	N 46°30' E 4°38'		1	Vx	Fagus sylvatica	Tempéré	5	Dystric cambisol
BioSoil - ICP forests level II	Sweden	N 58°03' E 12°01'		1	Gardsjon SE04	Picea abies	Boréal	4	Podzol
		N 57°07' E 14°33'		1	Aneboda SE14				
		N 59°45' E 14°54'		1	Kindla SE15				
		N 63°51' E 18°07'		1	Gammtratten SE16				
LTER - Luqillo Experimental Forest	Puerto Rico	N 18°19' W 65°45'	Toposéquence (ridge, slope, valley)	1	PR_B_R	Dacryodes excelsa	Tropical	2	Ferralsol
				1	PR_B_S				
				1	PR_B_V				
IN-SYLVA- France - Itatinga MORPHINE network	Brazil	S 22°58' W 48°44'	Itatinga	1	ITATINGA	Eucalyptus spp.	Tropical	5	Ferralsol

Tableau II-1. Metadonnées des sites d'études (suite)

Etude de l'évolution de la fertilité chimique du sol au cours du temps

Dans le cadre de l'étude diachronique des évolutions de la fertilité des sols (**chapitre 5**), un sous-ensemble du jeu de données a été exploité. Sur onze placettes permanentes du réseau Renecofor retenues pour cette étude, deux campagnes d'échantillonnages des sols ont été réalisées entre 1993-1995 pour la première campagne et entre 2007-2012 pour la seconde campagne.

Chaque placette représente une surface clôturée de 0.5 ha. Cinq sous-placettes de 13.5 m x 13.5 m ont été définies dont quatre étaient situées proche des coins de la placette et la cinquième au centre (**Fig. II-2**). Pour chaque sous-placette, une grille systématique de mail 4.5 m x 4.5 m (16 points) a été établie et 5 points d'échantillonnage par grille ont été sélectionnés aléatoirement (**Fig. II-2**). A chaque point d'échantillonnage, l'humus a été récolté et les trois couches de sol 0-10 cm, 10-20cm et 20-40cm ont été prélevées à l'aide d'une tarière. Pour chaque sous-placette, un échantillon composite de chaque couche de sol a été créé en regroupant les 5 échantillons collectés. Ces échantillons composites ont ensuite servi pour réaliser les analyses des propriétés physico-chimiques du sol. Ainsi, pour chaque placette RENECOFOR, l'échantillonnage de sol comprend 5 répliquas par couche de sol prélevée. Le même protocole d'échantillonnage a été utilisé lors de la seconde campagne à la nuance que les sous-parcelles ont été déplacées de 1.5 m dans une direction fixée. Tous les échantillons composites de sol ont ensuite été archivés.

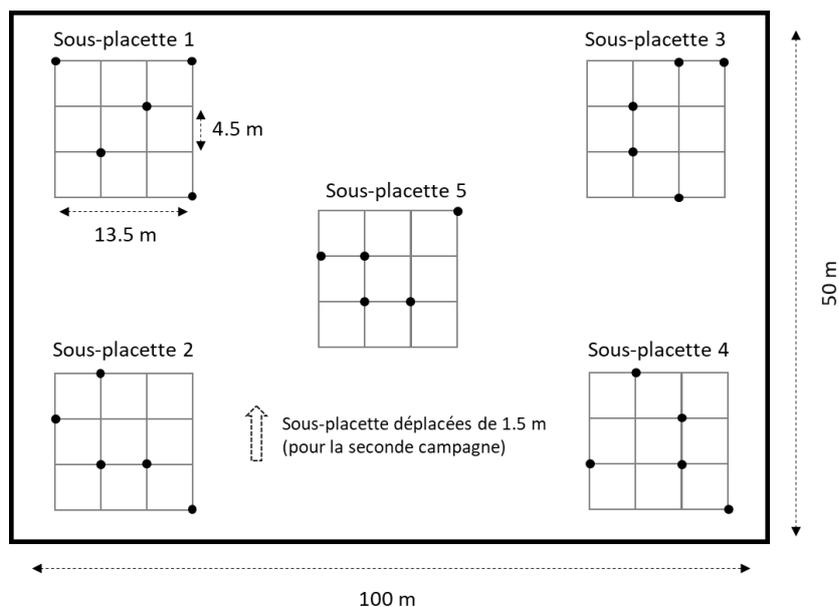


Figure II-2. Représentation schématique du protocole d'échantillonnage des sites de réseau RENECOFOR (l'image n'est pas à l'échelle). La figure est tirée de Jonard et.al. (2017).

1.2. Bases de données et propriétés physico-chimiques des sites d'études

La base de données a été initialement compilée à partir de jeux de données provenant de différents laboratoires et dont les analyses de sols ont été réalisées selon différents protocoles. Les propriétés physiques et chimiques de la base de données incluent:

- La distribution granulométrique en 3 fractions (*i.e.* argile, limon, sable) et la densité apparente.
- Le carbone et azote total mesurés par combustion humide (méthode Kjeldhal pour N ; méthode Walkey and Black ou Anne pour C) ou par combustion sèche.
- Les cations dits échangeables mesurées après une extraction de sol avec une solution de sel concentré : KCl (1 mol.L⁻¹), BaCl₂ (0.1 mol.L⁻¹), NH₄OAc (1 mol.L⁻¹) ou par chlorure de cobaltihexamine (1 mol.L⁻¹). La somme des 'bases échangeables' et l'acidité d'échange ont été respectivement définies comme étant la somme des teneurs en Ca, Mg et K, et la somme des teneurs en Al et H. La capacité d'échange cationique effective (ECEC) a été calculée en sommant les 'bases échangeables' et l'acidité d'échange.
- La base de données inclut également pour un nombre restreint d'échantillons de sol des extractions spécifiques de phases du sol : extraction Tamm (Tamm 1932), Tamura (Tamura 1958), Mehra-Jackson (Mehra 1958) et pyrophosphate.

Les sites se distinguent par des propriétés physico-chimiques contrastées. Les textures s'échelonnent principalement sur un gradient de teneur en sable (**Fig. II-3**) et varient d'une texture sableuse à des textures argilo-limoneuses ou limono-argileuses. Les sols sont acides à très acides, les pH_{eau} varient de 3.45 et 6.58 (médiane : 4.59) (**Fig. II-4**). Les teneurs en carbone total ne dépassent que rarement les 100 g.kg⁻¹ et varient de 0.4-200 g.kg⁻¹ (médiane : 17 g.kg⁻¹) tandis que pour l'azote total, les teneurs n'excèdent pas 10 g.kg⁻¹ (médiane : 1.1 g.kg⁻¹) (**Fig. II-4**). Les teneurs en bases échangeables (*i.e.* Ca, Mg et K) sont très variables (**Fig. II-5**) et varient de 2 – 3226 µg.g⁻¹ (médiane : 45 µg.g⁻¹) pour le Ca, de 0.3 – 561 µg.g⁻¹ (médiane : 12 µg.g⁻¹) pour le Mg et de 2 – 262 µg.g⁻¹ (médiane : 36 µg.g⁻¹) pour le K. Les capacités d'échanges cationiques varient de 0.19 à 21.5 cmol_c.kg⁻¹ (médiane : 4.3 cmol_c.kg⁻¹) (**Fig. II-6**) et sont en médiane faiblement saturés en bases échangeables de 2.6 – 99% (médiane : 13%) (**Fig. II-6**). Cette gamme de propriétés physico-chimiques des échantillons de sol illustre à la fois une

variabilité spatiale inter-sites (variabilité horizontale) et intra-site (variabilité verticale, liée à l'horizonation).

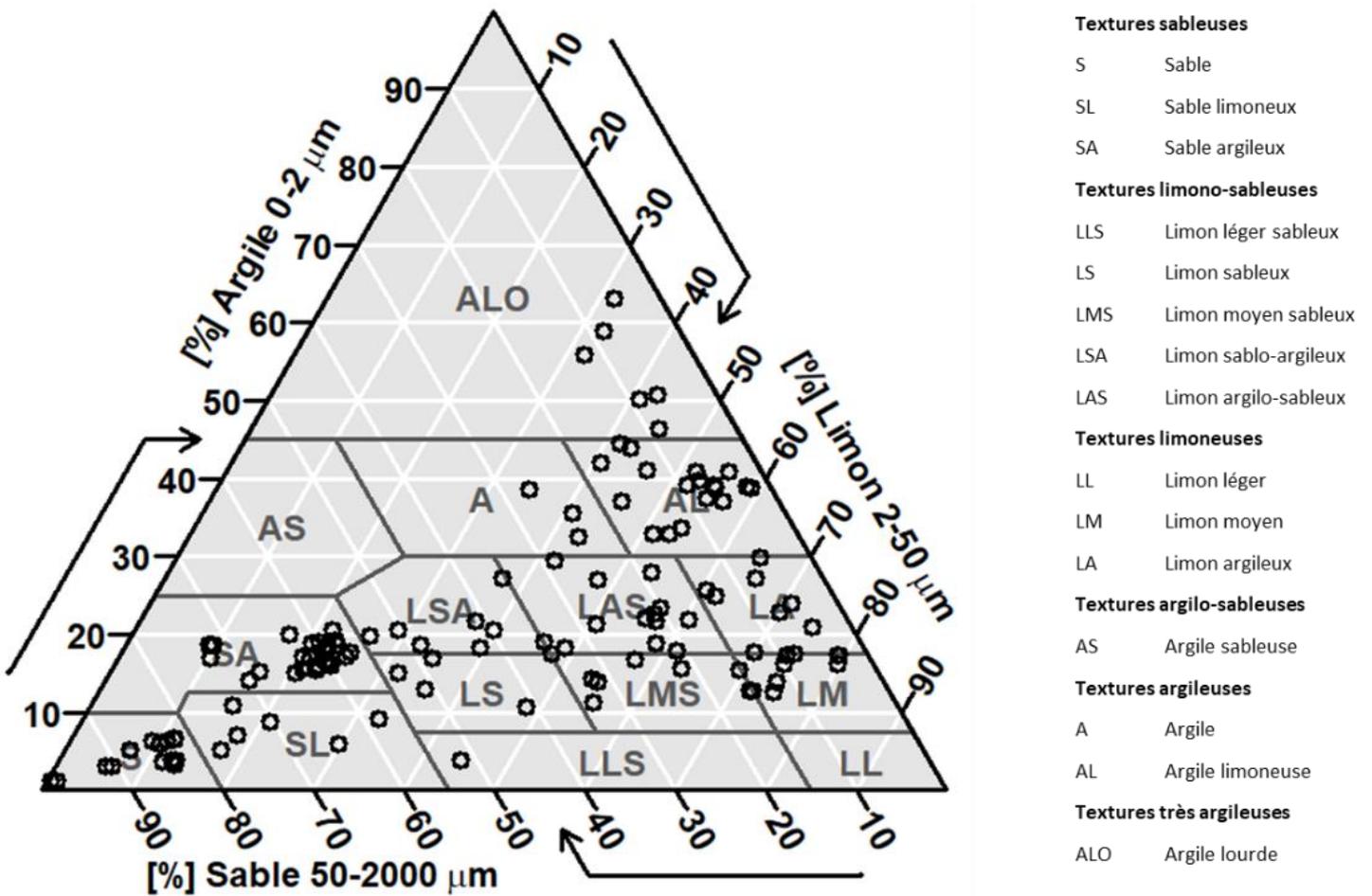


Figure II-3. Distributions des échantillons sur un diagramme de texture. La classification est tirée du système de classification de Jamagne, 1697 (modifié depuis).

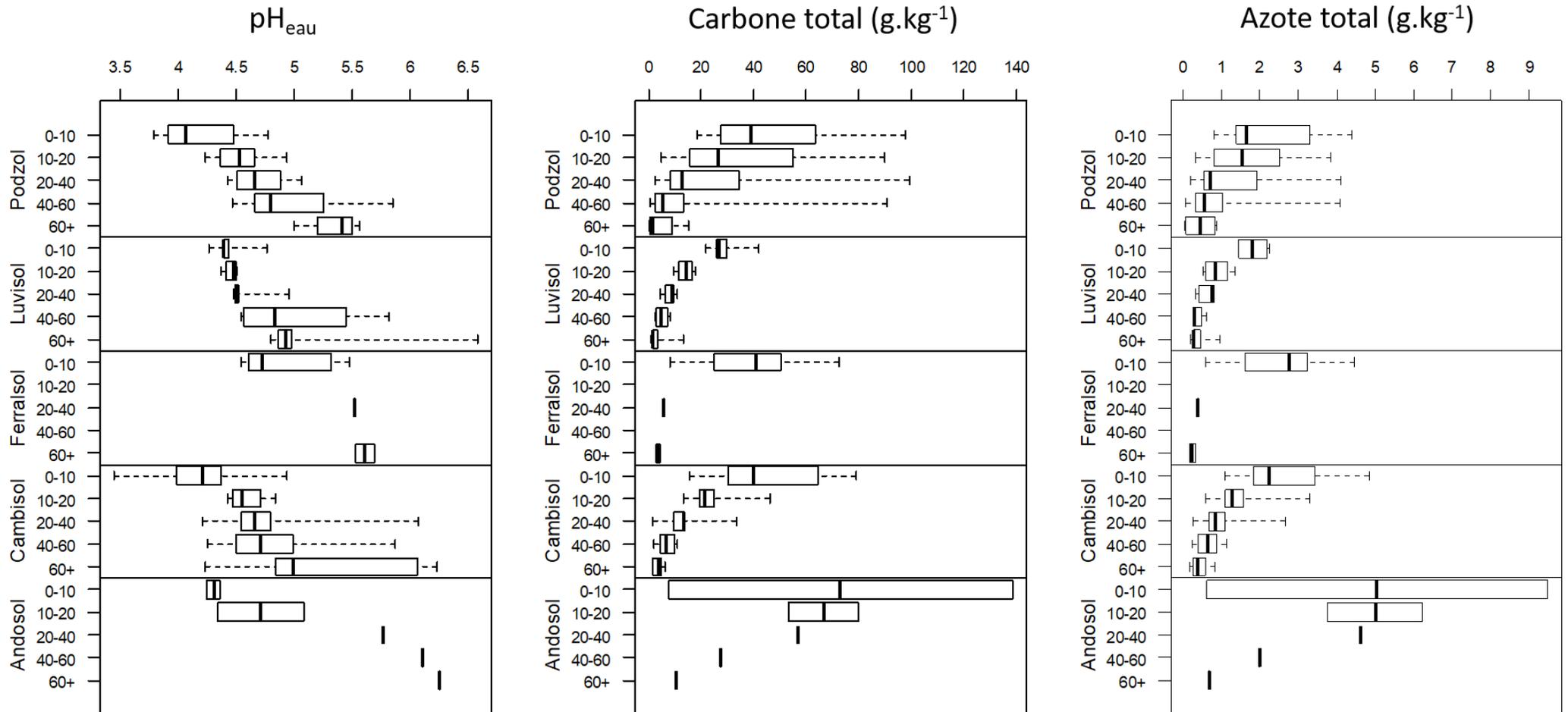


Figure II-4. Distribution du pH_{eau} , de la teneur en carbone et de la teneur en azote totale en fonctions du type de sol et de la profondeur.

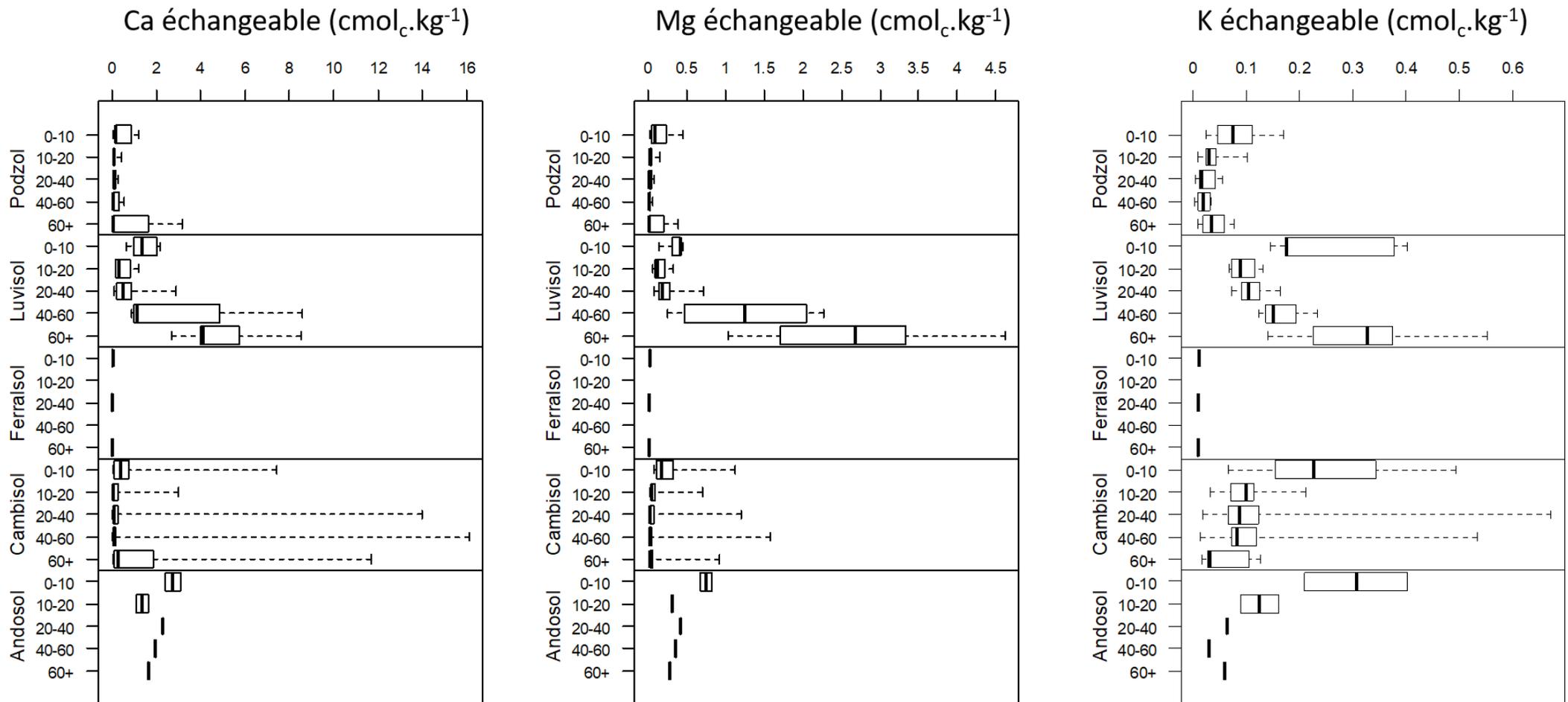


Figure II-5. Distribution des teneurs en Ca, Mg et K échangeables, mesurées conventionnellement en fonction du type de sol et de la profondeur.

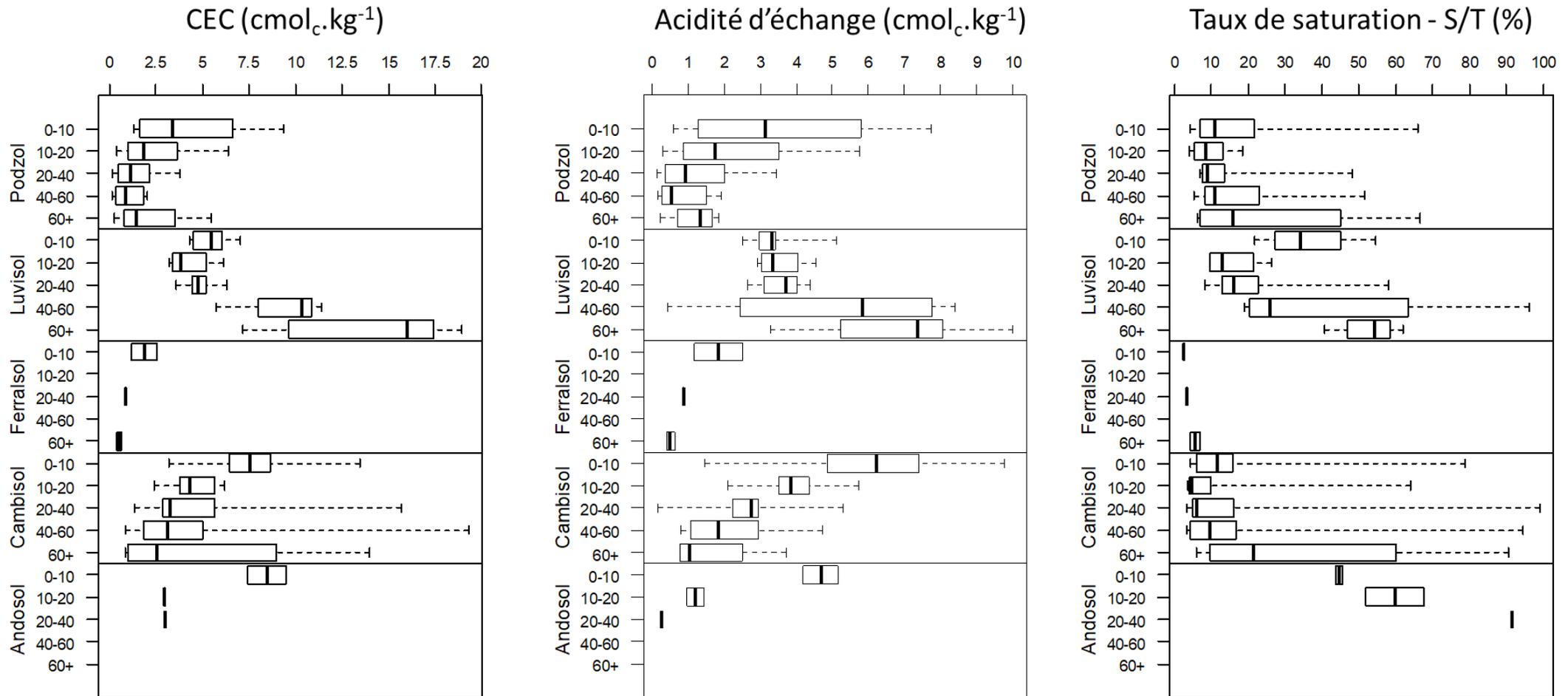


Figure II-6. Distribution des valeurs de la capacité d'échange cationique, l'acidité d'échange et du taux de saturation en bases échangeables en fonctions du type de sol et de la profondeur.

2. Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium

2.1. Concept général de la mesure des pools isotopiquement échangeables

La technique de dilution isotopique a été décrite comme l'approche la plus adéquate pour mesurer les pools de nutriments et de polluants dans le sol (pool isotopiquement échangeable) qui contribuent directement aux réactions d'équilibre entre les phases solide et liquide du sol (Hamon et al. 2002). Selon la définition donnée par Ebelhar (2008), le pool isotopiquement échangeable (noté E) correspond à la quantité d'un ion stocké dans la phase solide du sol qui peut s'échanger rapidement avec les ions du même élément dans la solution du sol, remplaçant ainsi progressivement ces ions dans la solution suite à leur perte (prélèvement des plantes, lixiviation avec les eaux de drainage ou d'autres flux de sortie).

Succinctement, cette approche consiste à mettre en contact un échantillon de sol avec une solution contenant des traceurs isotopiques. Des échanges entre les phases liquide et solide (échanges ioniques, diffusion, altération, etc) causent une diminution de l'enrichissement isotopique de la solution du sol par le mélange de la solution de traçage initiale (enrichie) et les pools du sol (non enrichis). La variation de la composition isotopique de la solution du sol au cours du temps permet de mesurer la quantité de l'ion dans la phase solide qui s'est isotopiquement mélangé avec la solution de traçage (i.e. le pool isotopiquement échangeable).

La technique de dilution isotopique est une technique bien établie et reconnue pour mesurer les pools de phosphore biodisponible dans le sol (Sen Tran et al. 1988) et de polluants tels que le cadmium, mercure, plomb, nickel, etc. (Hamon et al. 2002; Sterckeman et al. 2009). Très peu d'études ont appliqué cette approche pour quantifier les pools biodisponibles de cations nutritifs (pool isotopiquement échangeable noté E_{Ca} , E_{Mg} et E_K) et ces études ont eu recours aux radioisotopes de ces éléments (Blume and Smith 1954; Tendille et al. 1956; Graham and Fox 1971). Dans le cadre de ce travail de thèse, les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K ont été quantifiés en utilisant la technique de dilution isotopique avec les isotopes stables des trois cations nutritifs d'intérêt : ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K . Cette approche a été testée et validée par des essais préliminaires à ce projet de thèse (van der Heijden et al. 2017, 2018).

2.2. Approches expérimentales

2.2.1. Solution de traçage

Comme évoqué en introduction, de nombreux facteurs peuvent influencer la dilution isotopique, notamment les propriétés de la solution de traçage : concentrations élémentaires en Ca, Mg, K et pH. La concentration élémentaire de la solution de traçage doit être définie avec attention. La quantité de traceur isotopique (concentration multipliée par le volume de solution apportée) doit être suffisamment importante afin de pouvoir analytiquement résoudre les variations des rapports isotopiques au cours de l'expérience et que ces rapports isotopiques soient suffisamment différents des rapports isotopiques naturels. Cependant les concentrations élémentaires de la solution de traçage doivent se rapprocher le plus possible des concentrations élémentaires de la solution du sol *in situ* pour chaque échantillon : l'objectif est d'être au plus proche des concentrations à l'équilibre entre les phases solide et liquide du sol, pour éviter d'éventuels artefacts (gradient fort de diffusion, adsorption, altération minérale, etc.) lors de la mesure des pools isotopiquement échangeables. Deux études de dilution isotopique menées sur un alocrisol sableux (van der Heijden et al. 2017, 2018) ont en effet mis en évidence que la composition élémentaire n'avait pas d'influence significative sur la mesure des pools isotopiquement échangeables, lorsque cette composition élémentaire se trouvait dans la même gamme que celles mesurées pour les solutions de sol. Pour notre étude, nous avons choisi de garder les mêmes concentrations dans la solution de traçage pour chaque échantillon.

La solution de traçage enrichie en ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K (concentration : 800, 200 et 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) a été fabriquée à partir de composés artificiellement enrichis $^{44}\text{CaCO}_3$ (96.45 atom% ^{44}Ca), ^{26}MgO (99.25 atom% ^{26}Mg) et ^{41}KCl (97 atom% ^{41}K) dissout dans de l'eau ultrapure (Millipore 18.2 Ω). Les concentrations en Ca, Mg et K sont dans la gamme de concentrations mesurées dans les solutions de sol collectées sur différents sites expérimentaux et de suivi long terme des écosystèmes. Ainsi, les valeurs de concentrations restent plausibles et ne risquent pas d'influencer la mesure des pools isotopiquement échangeables.

Le pH_{eau} de la solution de traçage peut également modifier significativement les pools isotopiquement échangeables (van der Heijden et al, 2017, 2018). Le pH_{eau} de la solution de traçage a donc été ajusté pour correspondre au pH_{eau} de chaque échantillon de sol, par ajout d'acide nitrique purifiée (HNO_3 - 69% doublement distillé).

2.2.2. Choix des approches expérimentales

Dans cette étude, deux approches expérimentales ont été utilisées pour mesurer les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K : une méthode par agitation et une autre par percolation.

Plusieurs méthodologies permettent la mesure des pools isotopiquement échangeables. La méthode par agitation est la plus fréquemment employée dans les études sur le phosphore labile et les éléments trace métalliques. Les résultats de précédents essais (van der Heijden et al. 2018) dédiés à la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K selon différentes méthodologies (*i.e.* dispositif en agitation et en percolation) ont conduit à préconiser l'utilisation de la méthode en percolation. Cette dernière présente en effet l'avantage i) d'être plus proche des conditions naturelles (rapport sol:solution de traçage proche de la capacité au champ) et ii) de ne pas déclencher de processus non souhaités, comme par exemple des processus d'altération (observés en cours d'expérimentation pour les approches en agitation). Pour autant, ces précédents essais n'ont été conduits que sur un seul type de sol et des essais complémentaires sur un plus large panel de sol sont nécessaires pour affiner les recommandations sur la méthode la plus adéquate.

Dispositif en agitation

Dans le dispositif en agitation (**Fig. II-7**), chaque réacteur est composé de 2.5g de sol sec tamisé à 2mm, pesé dans des tubes Falcon en polypropylène de 50 mL dans lesquels 50 mL de solution de traçage ont été introduits. Les réacteurs ont été hermétiquement fermés et mis en agitation continue. Après 1h, 6h, 24h et 48h, les réacteurs ont été centrifugés (3000 rpm) durant 20 min afin de prélever 12.5 mL de surnageant pour analyse élémentaire et isotopique. Le culot de sol a été remis en suspensions via un agitateur vortex puis remis en agitation continue jusqu'au pas de temps suivant. Une série de mesure dans le dispositif en agitation comprend 48 réacteurs individuels.

Le dernier pas de temps des cinétiques de dilution dans le système en agitation a été choisi en se basant sur les résultats de précédents essais. Dans cette étude, Les résultats ont montré qu'au-delà de 48h d'agitation des processus d'altération pouvaient se déclencher. Afin d'éviter que de tel processus ne se déclenchent, le temps de contact maximal entre la solution de traçage et l'échantillon de sol a été fixé à 48h.

Dispositif en percolation

Dans le dispositif en percolation (**Fig. II-8**), chaque réacteur est composé de 2.5g de sol sec tamisé à 2mm, pesé dans une colonne chromatographique en polypropylène et équipée d'un filtre fritté en polypropylène de porosité 45-90 μ m (Evergreen Scientific). Chaque réacteur fonctionne en circuit fermé et a été percolé avec 50 mL de solution de traçage contenu dans un tube Falcon de 50 mL acheminée par une pompe péristaltique. La solution de traçage arrive à la surface de la colonne de sol en goutte à goutte afin d'éviter des processus de compaction et d'écoulements préférentiels le long des parois de la colonne. Après avoir percolé à travers la colonne de sol, le percolât est réinjecté dans le réservoir de solution de traçage par une autre pompe péristaltique. Les flux d'entrée sont maintenus constants tout le long de l'expérimentation. La dilution isotopique est suivie en prélevant dans la solution de traçage 12.5 mL d'aliquote après 1h, 6h, 24h et 168h (7 jours). Avant la réalisation des extractions séquentielles à l'issue du dernier prélèvement, la colonne de sol a été transférée dans un tube Falcon de 50 mL en injectant sur le bas de la colonne, 10 mL de la première solution d'extraction (acétate d'ammonium 1 mol.L⁻¹) pour compléter ensuite avec 40 mL de solution d'extraction. Une série de mesure dans le dispositif en percolation comprend 24 réacteurs individuels.

Dans le système en percolation, le temps de contact entre les phases solide et liquide est moindre en comparaison de l'approche en agitation où l'échantillon de sol est continuellement ennoyé. Ainsi il est attendu que la durée pour atteindre l'équilibre soit plus longue avec l'approche en percolation en comparaison de l'approche en agitation. Dans des précédents essais, les cinétiques d'échanges ont été conduites sur une durée de deux semaines (336h) et les résultats ont montré que l'équilibre isotopique était établi à partir de 7 jours. La durée des cinétiques d'échanges dans le système en percolation a donc été fixée à 7 jours (168h), en s'appuyant sur ces précédents résultats.

ÉXPÉRIMENTATION

GRANDEUR MESURÉE

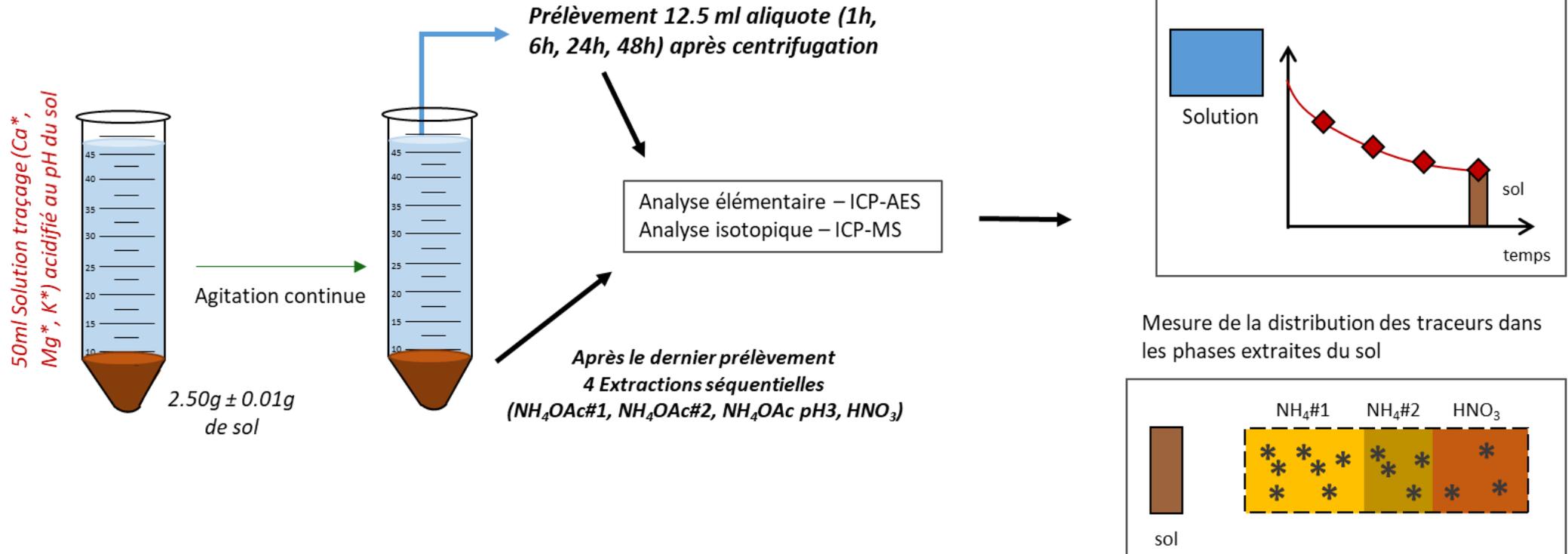
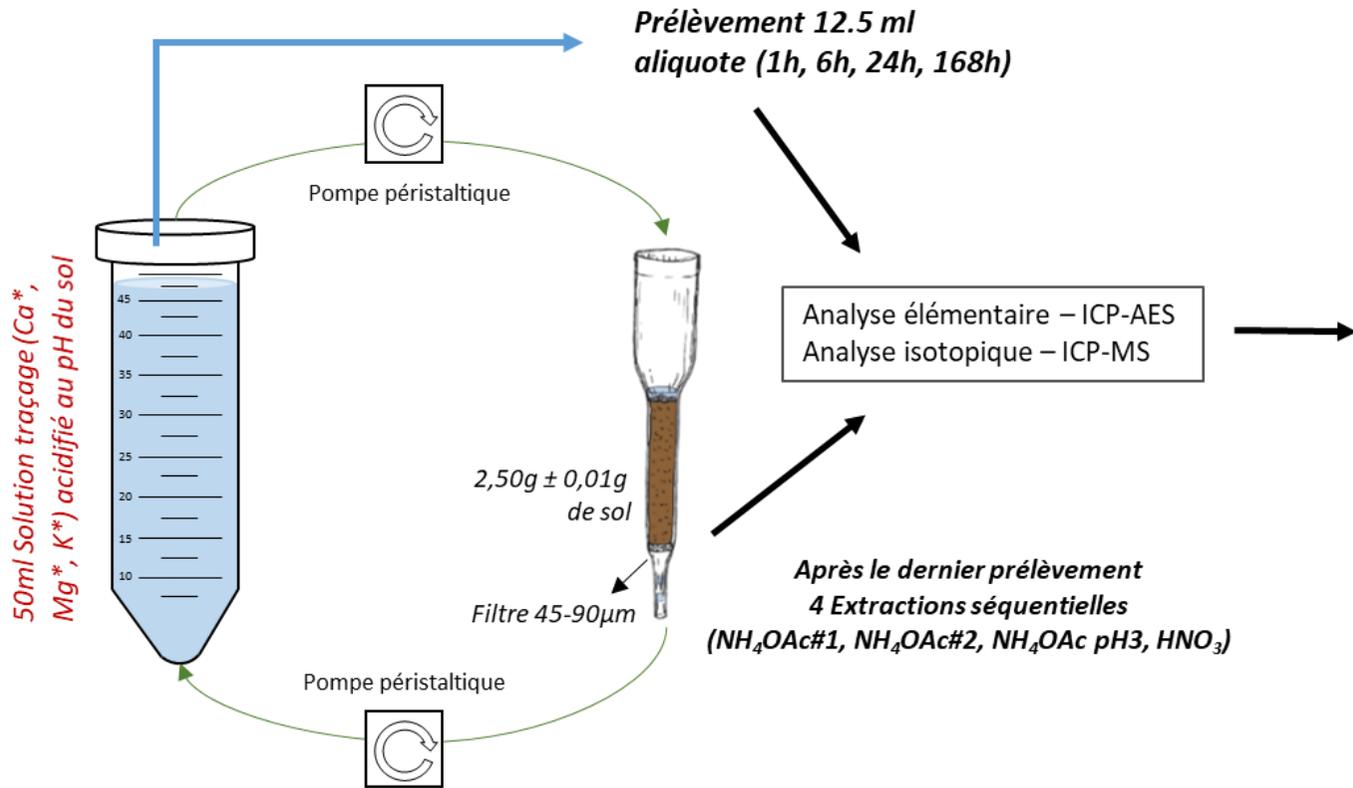


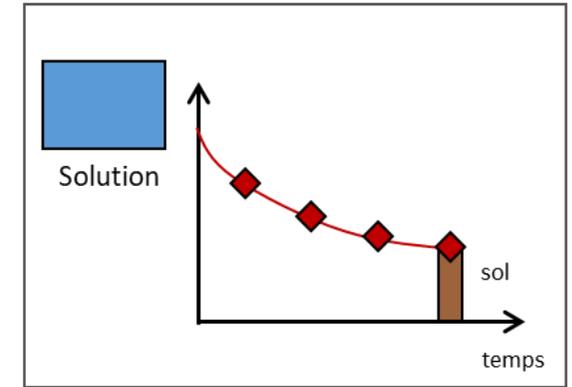
Figure II-7. Représentation schématique du dispositif expérimental en agitation.

ÉXPÉRIMENTATION

GRANDEUR MESURÉE



Suivi de la dilution isotopique et mesure des pools isotopiquement échangeables



Mesure de la distribution des traceurs dans les phases extraites du sol

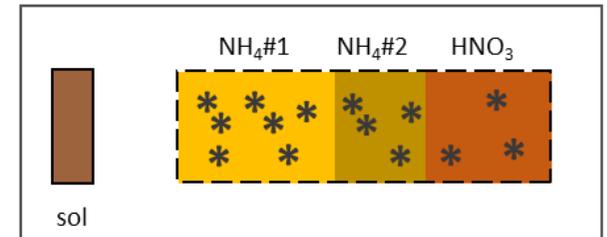


Figure II-8. Représentation schématique du dispositif expérimental en percolation d'une colonne de sol.

2.2.3. Extractions séquentielles des compartiments du sol

A l'issu des derniers prélèvements dans la solution de traçage, le culot de sol est transféré dans un tube Falcon de 50 mL pour le système en percolation et les réacteurs dans le système en agitation sont conservés pour y réaliser quatre extractions séquentielles :

1. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 1h. Ci-après intitulé NH₄#1 ;
2. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 24h. Ci-après intitulé NH₄#2 ;
3. 50 mL d'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1} , tamponné à pH = 3) et agité continuellement durant 3h ;
4. 50 mL d'acide nitrique purifié (1 mol.L^{-1}) et agité continuellement durant 20h. Ci-après intitulé HNO₃.

Les deux premières extractions à l'acétate d'ammonium ciblent les cations échangeables. L'extraction à l'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1}) tamponnée à pH 3 a été réalisée pour s'assurer que l'ensemble des cations échangeables sont extraits avant la dernière extraction. L'acide nitrique (1 mol.L^{-1}) est une extraction forte et non sélective capable de dissoudre de nombreuses phases secondaires tel que les allophanes, les complexes organométalliques de fer et d'aluminium et partiellement les (hydr)oxides d'aluminium et de fer, certains argiles (*e.g.* vermiculite, chlorite, smectite) et des minéraux primaires facilement altérables (*e.g.* biotite, muscovite) (Nezat et al. 2007).

2.3. Méthodes d'analyses

2.3.1. Mesure élémentaire

La concentration des éléments majeurs et traces dans les solutions et extractions de sol a été mesurée par spectroscopie d'émission atomique par plasma induit (AGILENT 7500 series).

2.3.2. Mesure des rapports isotopiques

Les rapports isotopiques $^{44/40}\text{Ca}$, $^{24/26}\text{Mg}$ et $^{41/39}\text{K}$ ont été mesurés par ICP-MS quadripolaire (spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif ; Analytik Jena 820MS). Chaque rapport isotopique est mesuré séparément.

La réponse du détecteur n'étant pas linéaire aux concentrations en Ca, Mg et K, trois aliquotes ont été constituées par échantillon pour la mesure des trois rapports isotopiques, puis dilués ou concentrés afin d'obtenir une concentration de 100 µg.L⁻¹ pour Ca et Mg et 200 µg.L⁻¹ pour K. Pour prévenir des interférences matricielles à l'analyse isotopique, les extraits d'acétate d'ammonium ont été minéralisés avec 5 mL d'eau oxygéné (H₂O₂ 30%) après évaporation complète de la solution d'extraction. Les échantillons ont été refermés non hermétiquement et laissés 1 semaine sur une plaque chauffante à 70°C. A l'issue de la minéralisation, les échantillons ont été évaporés complètement et les résidus secs ont été remis en solution avec de l'eau Millipore acidifiée à 1% avec de l'acide nitrique purifié (HNO₃ 69%).

En raison de la non linéarité de la réponse du détecteur à l'enrichissement de ⁴⁴Ca, ²⁶Mg et ⁴¹K, une correction du biais de masse a été réalisée par la méthode d'encadrement par 2 standards internes enrichies de ⁴⁴Ca, ²⁶Mg et ⁴¹K et mesurés tous les 12 échantillons. Les standards ont été sélectionnés de manière à ce que leur rapport isotopique encadre les rapports isotopiques des échantillons.

2.4. Méthode de calcul

Pool isotopiquement échangeable

Par définition, le pool isotopiquement échangeable est en équilibre avec celui de la solution du sol. Sa quantification repose sur le postulat que leurs signatures soient égales. Suivant ce postulat, le pool isotopiquement échangeable peut être calculé à partir de l'enrichissement isotopique mesuré dans la solution selon l'équation (1) (les équations sont données pour le Mg) :

$$E_{Mg} = Mg_{traceur} \times \left(\frac{1}{\alpha_{solution}^{Mg}} - 1 \right) \quad (1)$$

Où E_{Mg} est le pool isotopiquement échangeable en µg.g de sol sec⁻¹, Mg_{traceur} est la quantité de traceur ajouté au système en µg.g de sol sec⁻¹ et α_{solution}^{Mg} représente la fraction de Mg dans la phase liquide provenant de la solution de traçage et est calculé selon l'équation (2) :

$$\alpha_{solution}^{Mg} = \frac{(\%^{26}Mg)_{solution} - (\%^{26}Mg)_{nat}}{(\%^{26}Mg)_{traceur} - (\%^{26}Mg)_{nat}} \quad (2)$$

Où $\%^{26}\text{Mg}_{\text{solution}}$ représente l'abondance atomique en ^{26}Mg dans la solution, $\%^{26}\text{Mg}_{\text{nat}}$ l'abondance naturelle en ^{26}Mg , et $\%^{26}\text{Mg}_{\text{traceur}}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage enrichie.

Contribution des différents pools de Mg, Ca et K extraits du sol au pool isotopiquement échangeable

La distribution relative des traceurs isotopiques dans les différents compartiments extraits du sol peut être utilisée pour quantifier la contribution relative de chaque compartiment extrait (*i.e.* $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ and HNO_3) au pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg et K. Cette contribution relative est calculée en divisant la quantité de traceur retrouvée dans chaque compartiment (recouvrement de traceur) par la somme des quantités de traceur retrouvées dans les trois compartiments extraits (**Fig. II-9**).

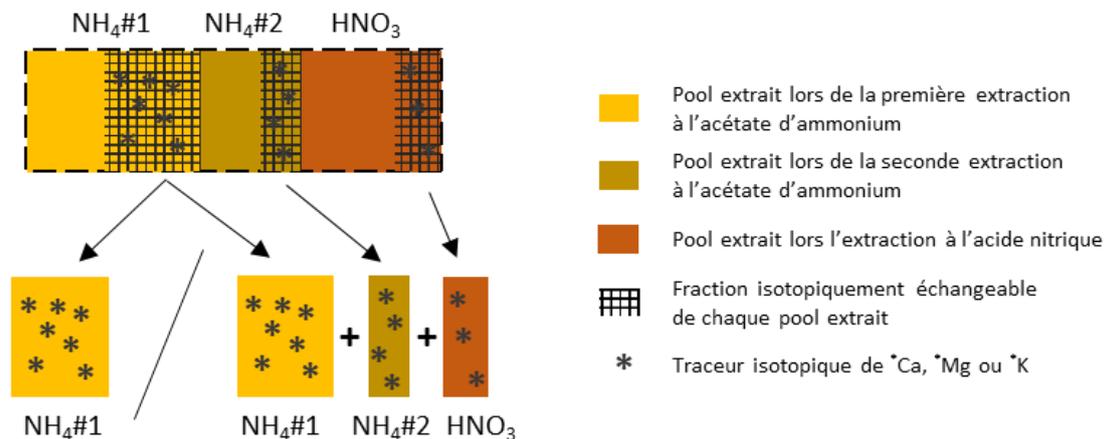


Figure II-9. Représentation schématique de la distribution des traceurs dans les trois pools extraits du sol ($\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3) et de la fraction isotopiquement échangeable de chaque pool. Un exemple du calcul de la contribution relative du pool $\text{NH}_4\#1$ de Ca, Mg ou K au pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg ou K est schématisé en bas de la figure.

Fraction isotopiquement échangeable de chaque pool de Mg, Ca et K extraits du sol

La fraction isotopiquement échangeable (**Fig. II-9**) de chaque compartiment extrait (*i.e.* $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3) est calculée selon le postulat que la composition isotopique du pool isotopiquement échangeable est égale à celle de la phase liquide (équation (3)) :

$$\alpha_{\text{pool}}^{\text{IE Mg}} = \frac{(\%^{26}\text{Mg})_{\text{compartiment}} - (\%^{26}\text{Mg})_{\text{nat}}}{(\%^{26}\text{Mg})_{\text{solution}} - (\%^{26}\text{Mg})_{\text{nat}}} \quad (3)$$

Où $\%^{26}\text{Mg}_{\text{compartiment}}$ est l'abondance atomique en ^{26}Mg dans les compartiments extraits et $\%^{26}\text{Mg}_{\text{solution}}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage au dernier pas de temps de la cinétique de dilution isotopique (*i.e.* 168h et 48h respectivement en percolation et en agitation).

Pool échangeable expérimental

Un pool échangeable expérimental (Exch_Exp_x) a été construit en additionnant les quantités élémentaires de Ca, Mg ou K mesurées dans la solution de traçage à l'issue de la dilution isotopique ainsi que des quantités de Ca, Mg ou K extraites par les deux extractions à l'acétate d'ammonium.

$$\text{Exch_Exp}_x = [x]_{\text{solution d'équilibration à la fin de l'échange}} + [x]_{(\text{NH}_4\#1 + \text{NH}_4\#2)}$$

Où $[x]$ représente les concentrations de Ca, Mg ou K

Le **tableau II-2** récapitule les notations des variables utilisées dans les différents chapitre de la thèse pour un élément x (x : Ca, Mg, K)

Type de données	Variable	Notation
Données conventionnelles	Pool échangeable conventionnel	Exch_Conv_x
Données expérimentales isotopiques	Pool isotopiquement échangeable	E_x
	Contribution des différents pools de Ca, Mg et K extraits du sol au pool isotopiquement échangeable	/
	Fraction isotopiquement échangeable de chaque pool de Ca, Mg et K extraits du sol	/
Données expérimentales élémentaires	Pool élémentaire de Ca, Mg ou K retrouvé dans la solution de traçage à l'issue de l'étape d'équilibre isotopique	X_{Solution}
	Pool élémentaire de Ca, Mg ou K extraits par les différentes extractions de sol	$X_{\text{NH}_4\#1}$; $X_{\text{NH}_4\#2}$; X_{HNO_3}
	Pool échangeable expérimental	Exch_Exp_x

Tableau II-2. Récapitulatif des notations des différentes variables utilisées dans les chapitres de la thèse. Les notations utilisées par la suite dans le manuscrit sont données dans la dernière colonne où la lettre X représente le Ca, Mg ou K.

2.5. Limites de quantification

Lorsqu'un échantillon était en dessous de la limite de quantification (concentration élémentaire ou enrichissement isotopique), le recouvrement de traceur isotopique dans cet échantillon a été défini comme nul. Pour la mesure des concentrations élémentaires de Mg, Ca et K, les limites de quantification sont données dans le **tableau II-3** selon le type d'échantillon (solution de sol, extraction acétate d'ammonium ou acide nitrique). Pour l'enrichissement isotopique la limite de quantification a été établie à 10‰ pour le ^{44}Ca et ^{26}Mg , et 20‰ pour le ^{41}K . Cette limite de quantification a été définie en fonction d'une part de la variabilité naturelle des rapports isotopiques stables du Mg, Ca et K dans les différents réservoirs de la planète et d'autre part de la précision et répétabilité des mesures de rapports isotopiques par l'ICP-MS quadripolaire (van der Heijden et al. 2013a, 2014b).

Pour les échantillons dont les concentrations étaient trop faibles pour permettre la conduction d'analyse isotopique, leurs concentrations ont été considérées comme étant sous la limite de détection.

	Ca	Mg	K
Solution du sol	10 $\mu\text{g.L}^{-1}$	15 $\mu\text{g.L}^{-1}$	30 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Acétate ammonium	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$	15 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 0.3 $\mu\text{g.g}^{-1}$	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$
HNO ₃	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$	15 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 0.3 $\mu\text{g.g}^{-1}$	50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ / 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$

Tableau II-3. Limite de quantification des concentrations élémentaires dans les différents compartiments extraits, exprimées en $\mu\text{g.L}^{-1}$ et en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de sol sec^{-1} .

2.6. Validation post-analytique des échantillons

Les échantillons isotopiquement enrichis sont particulièrement sensibles aux contaminations. Bien que toutes les précautions aient été prises pour limiter ces contaminations, le Ca, Mg et K sont des éléments très abondants et les échantillons liquides peuvent être facilement contaminés pour diverses raisons (vaisselle de laboratoire non propre, poussières dans l'atmosphère, etc.). Une contamination même faible peut engendrer une variation forte des rapports isotopiques et ainsi un biais important dans l'interprétation des résultats. Les résultats associés à chaque échantillon ont donc été vérifiés selon une liste de critères permettant d'exclure les échantillons

contaminés. Puisqu'il n'y a pas nécessairement de relations entre les contaminations potentielles en Ca, Mg ou K, les critères de validation ci-dessous ont été appliqués indépendamment pour chacun des trois éléments :

1. **Base de données des pools isotopiquement échangeables E_{Ca} , E_{Mg} et E_K .** Chaque cinétique de dilution isotopique est constituée de quatre mesures de la solution du sol (concentration élémentaire et rapport isotopique). Si au moins une de ces quatre mesures était manquante (e.g. perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.), le pool isotopiquement échangeable ne pouvait être calculé. D'après le concept de dilution isotopique, il est attendu que l'enrichissement isotopique dans la solution du sol diminue au cours du temps de manière monotone. Une rupture de la monotonie de la courbe de dilution isotopique suggère qu'un point d'échantillonnage de la cinétique a été contaminé. Dans de tels cas, le pool isotopiquement échangeable de cet échantillon a été considéré comme invalide et retiré du jeu de données.
2. **Base de données d'extractions de sol.** Pour un échantillon de sol, si au moins une des trois extractions de sol (*i.e.* $NH_4\#1$, $NH_4\#2$ and HNO_3) était manquante (*e.g.* perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.) ou si le recouvrement de traceur cumulé sur l'ensemble du système (solution + sol) était supérieur à 120% de la quantité de traceur apportée initialement avec la solution de traçage, les données d'extractions du sol ont été considérées comme invalides et retirées du jeu de données.

3. Méthodes statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R : version 3.6.1 (<http://www.r-project.org/>). Les figures ont été réalisées au moyen du package ggplot2 (Wickham 2009).

Le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (échantillons appariés) a été utilisé pour tester la significativité statistique des différences entre :

1. les deux dispositifs expérimentaux (concentrations élémentaires dans les différents compartiments extraits, pools isotopiquement échangeables) (**chapitre 3**) ;
2. les pools isotopiquement échangeables et les pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (**chapitre 4**) ;
3. les propriétés physico-chimiques des sols prélevés aux deux différentes campagnes sur le réseau RENECOFOR (**chapitre 5**).

Pour ces tests, la normalité des distributions a été évaluée par un test Shapiro-Wilk, et l'homoscédasticité par un test de Levene.

Les corrélations entre les différentes variables du jeu de données ont été calculées par le test de corrélation de Spearman. La significativité de l'ensemble des tests a été fixée au risque alpha < 0.05.

Différents rapports ont été exploités dans les chapitres de la thèse pour illustrer les différences relatives entre différents paramètres.

- Les différences relatives entre les pools isotopiquement échangeables (E_x) et les pools échangeables conventionnels ($Exch_conv_x$) sont exprimées par le ratio $E_x:Exch_Conv_x$.
- Les différences relatives entre les deux dispositifs expérimentaux sont systématiquement exprimées par le rapport de la mesure en agitation sur la mesure en percolation pour une variable donnée (X) ($X_{agitation}:X_{percolation}$).
- Les différences relatives entre les pools isotopiquement échangeables (E_x) et les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) sont exprimées par le ratio $E_x:Exch_Exp_x$.
- Les différences relatives entre les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) et les pools échangeables conventionnels ($Exch_conv_x$) sont exprimées par le ratio $Exch_Exp_x:Exch_Conv_x$.

Références

- Achat DL, Deleuze C, Landmann G, et al (2015) Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth - A meta-analysis. *For. Ecol. Manage.* 348:124–141.
- Blume JM, Smith D (1954) Determination of exchangeable calcium and cation-exchange capacity by equilibration with Ca-45. *Soil Sci* 77:9–18.
- Ebelhar SA (2008) Labile pool. In: Chesworth W (ed) *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Dordrecht, pp 425–426
- Graham ER, Fox RL (1971) Tropical soil potassium as related to labile pool and calcium exchange equilibria Calcium Soil analysis. *Soil Sci* 3:318–322.
- Hamon RE, Bertrand I, McLaughlin MJ (2002) Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry. *Aust J Soil Res* 40:1371–1381.
- Leys BA, Likens GE, Johnson CE, et al (2016) Natural and anthropogenic drivers of calcium depletion in a northern forest during the last millennium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113:6934–6938. doi: 10.1073/pnas.1604909113
- Mehra OP (1958) Iron Oxide Removal from Soils and Clays by a Dithionite-Citrate System Buffered with Sodium Bicarbonate. *Clays Clay Miner* 7:317–327. doi: 10.1346/ccmn.1958.0070122
- Nezat CA, Blum JD, Yanai RD, Hamburg SP (2007) A sequential extraction to determine the distribution of apatite in granitoid soil mineral pools with application to weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, NH, USA. *Appl geochemistry* 22:2406–2421.
- Sen Tran T, Giroux M, Fardeau JC (1988) Effects of Soil Properties on Plant-Available Phosphorus Determined by the Isotopic Dilution Phosphorus-32 Method. *Soil Sci Soc Am J* 52:1383–1390. doi: 10.2136/sssaj1988.03615995005200050033x
- Sterckeman T, Carignan J, Srayeddin I, et al (2009) Availability of soil cadmium using stable and radioactive isotope dilution. *Geoderma* 153:372–378. doi: 10.1016/j.geoderma.2009.08.026
- Tamm O (1932) ÜBER DIE OXALATMETHODE IN DER CHEMISCHEN BODENANALYSE.
- Tamura T (1958) Identification of clay minerals from acid soils. *J Soil Sci* 9:141–147. doi: 10.1111/j.1365-2389.1958.tb01906.x
- Tendille C, Grenier de Ruere J, Barbier G (1956) Echanges isotopiques du potassium peu mobile des sols. *CR AcadSci* 243:87–89.
- van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150
- van der Heijden G, Legout A, Mareschal L, et al (2017) Filling the gap in Ca input-output budgets in base-poor forest ecosystems: The contribution of non-crystalline phases evidenced by stable isotopic dilution. *Geochim Cosmochim Acta* 209:135–148. doi: 10.1016/j.gca.2017.04.018
- van der Heijden G, Legout A, Midwood AJ, et al (2013) Mg and Ca root uptake and vertical transfer in soils assessed by an in situ ecosystem-scale multi-isotopic (²⁶Mg & ⁴⁴Ca) tracing experiment in a beech stand (Breuil-Chenue, France). *Plant Soil* 369:33–45. doi: 10.1007/s11104-012-1542-7

van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2014) The dynamics of calcium and magnesium inputs by throughfall in a forest ecosystem on base poor soil are very slow and conservative: Evidence from an isotopic tracing experiment (^{26}Mg and ^{44}Ca). *Biogeochemistry* 118:413–442. doi: 10.1007/s10533-013-9941-2

Wickham H (2009) *ggplot2 : Elegant Graphics for Data Analysis*, 1st edn. Springer-Verlag New York

Chapitre III

**Etude comparative de différentes approches
directes et indirectes pour quantifier le pool
isotopiquement échangeable**

1. Introduction

Le calcium, magnésium et le potassium sont prélevés par les plantes sous leur forme ionique en solution : Ca^{2+} , Mg^{2+} et K^+ . Dans le modèle conceptuel de la biodisponibilité, la quantité d'ions Ca, Mg et K dans la solution représente le pool de nutriments directement disponibles pour les plantes : le facteur intensité. Dans les écosystèmes forestiers, sur le long terme, ce pool de nutriments disponible est approvisionné par les apports atmosphériques et l'altération des minéraux du sol et varie en fonction des pertes par lixiviation avec les eaux de drainage et l'immobilisation nette dans la biomasse aérienne. Sur le court terme, la solution du sol est en équilibre dynamique avec un pool de cations adsorbés à la surface des particules de sol constituant ainsi un pool jouant à la fois le rôle de source et de puits de cations et permettant le stockage temporaire des cations pour tamponner sur des échelles de temps courtes le facteur intensité.

Pour les cations nutritifs Ca, Mg et K, il est communément admis que ce pool source/puits est constitué du pool de cations adsorbés à la surface de particules de sol chargés négativement (phyllosilicates, acides organiques) sous une forme échangeable (noté pool échangeable) et extractible avec un sel concentré (KCl, NH_4Cl , BaCl_2 , etc.). Ainsi dans les bilans de fertilité, le pool échangeable est mesuré pour quantifier le pool biodisponible (pool source/puits) (Ranger and Turpault 1999). Cependant, ce modèle conceptuel de la biodisponibilité a été remis en question par différentes études qui suggèrent que des pools de Ca, Mg et/ou K autre que le pool échangeable (défini par la méthode d'extraction de sol avec un sel concentré) contribuent aussi au pool source/puits et donc à la biodisponibilité des cations nutritifs dans le sol (Ladanai et al. 2010; Lucash et al. 2012; van der Heijden et al. 2013b). Des méthodes alternatives ont ainsi été proposées par plusieurs auteurs afin de mieux caractériser le pool biodisponible. Richardson et al. (2017) ont par exemple étudié l'évolution des stocks biodisponibles de Ca, Mg et K du sol suite à des coupes forestières à blanc en mesurant les pools de cations extraits avec un acide fort (HNO_3 et HCl). Rosenstock et al. (2019) ont quant à eux étudié les différents pools de cations nutritifs en fonction de différentes méthodes d'extractions du sol et discuté du potentiel de ces différentes extractions pour prendre en compte les pools autres que les pools échangeables (pool microbien, oxalate de calcium, potassium interfoliaire des phyllosilicates) qui peuvent contribuer à la biodisponibilité en cations nutritifs. Enfin, Bel et al. (2020), dans une étude menée sur une vaste gamme d'échantillons de sol couvrant des contextes édaphiques et-climatiques très variés, ont utilisé la technique de dilution isotopique avec les isotopes stables

du Ca, Mg et K pour déterminer le pool de cations nutritifs biodisponibles. Cette étude a mis en évidence que des phases du sol autres que le pool échangeable conventionnel contribuaient directement à l'équilibre géochimique entre les phases liquide et solide, et donc au pool biodisponible de ces éléments. Le traçage isotopique de ces pools biodisponibles a permis de suggérer qu'ils étaient vraisemblablement portés par des phases minérales secondaires et amorphes, en association avec des anions (acides organiques du sol, sulfate ou phosphate) pour le calcium et le magnésium, et par des sites d'échanges spécifiques tels que le bord des feuillettes de phyllosilicates ou des aluminosilicates amorphes pour le potassium (van der Heijden et al. 2018; Bel et al. 2020).

Etablir une méthode analytique universelle permettant d'extraire précisément le pool biodisponible de cations nutritifs dans le sol reste un challenge en science du sol. A ce jour, la méthode de dilution isotopique semble être la méthode la plus adéquate pour mesurer le pool de cations nutritifs jouant le rôle de source et de puits (Hamon et al. 2002). Cette méthode basée sur l'équilibre isotopique entre les ions en solution et ceux adsorbés sur les constituants solide vise à quantifier l'ensemble des pools de cations à l'équilibre solide-liquide (pool isotopiquement échangeable noté E). Une solution de traçage enrichie isotopiquement est mise en contact avec un échantillon de sol. L'échange isotopique atteint un équilibre solide-liquide, révélé par une diminution (*i.e.* une dilution) de l'enrichissement isotopique initial de la solution de traçage, qui permet de quantifier le pool isotopiquement échangeable. Cependant, la dilution d'une signature isotopique enrichie peut être influencée par de multiples facteurs :

1) le dispositif expérimental : le choix de l'approche utilisée peut fortement influencer l'équilibre ainsi que la dilution isotopique qui en résulte. Parmi les principaux facteurs de variation, nous pouvons citer la vitesse de renouvellement de la solution de traçage à l'interface solide/liquide, le temps d'équilibre entre la solution et le sol, le rapport solide-liquide utilisé, ou encore les conditions d'humidité ou de saturation lors de la mesure (échantillon de sol ennoyé ou non). L'étude menée par van der Heijden et al. (2018) illustre en partie l'importance de ces paramètres : les résultats de l'essai de dilution isotopique stable ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K d'un même échantillon de sol montrent en effet que l'équilibre isotopique avait été atteint au bout de 6h pour un système où le sol était agité dans la solution de traçage et au bout de 96h pour un système où une colonne de sol était percolée avec la solution de traçage.

- 2) les propriétés physico-chimiques de la solution de traçage : le pH, le potentiel d'oxydo-réduction, les concentrations élémentaires des solutions de traçage peuvent grandement influencer les processus géochimiques à l'interface solide/liquide durant la dilution isotopique. L'altération minérale des minéraux primaires et secondaires est notamment sensible à la concentration en protons (pH) et en complexants organiques dans la solution. Dans leur essai de dilution isotopique, van der Heijden et al. (2018) ont montré que les pools isotopiquement échangeables quantifiés de Mg et K étaient significativement supérieurs pour une solution de traçage acidifiée à pH 3 comparativement à une solution de traçage à pH 5. L'altération d'un grand nombre de minéraux abondants dans les sols (e.g. les (hydr)oxydes de fer) est aussi sensible au potentiel d'oxydo-réduction (Chadwick and Chorover 2001). Les concentrations élémentaires en solution peuvent aussi fortement influencer l'équilibre entre la solution et le sol (flux nets d'adsorption/désorption, gradients de diffusion, altération/précipitation). Bien que dans l'étude de van der Heijden et al. (2018), aucune différence significative de pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg et K n'ait été observée pour deux solutions de traçage (l'une composée de 400, 130 et 430 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et l'autre composée de 950, 470 et 515 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivement pour le Ca, Mg et K), les pools isotopiquement échangeables de Ca et Mg dans cette étude étaient différents de ceux estimés dans une étude précédente (van der Heijden et al. 2017), dans laquelle le même échantillon de sol avait été marqué avec une solution de traçage plus concentrée en cations nutritifs (composée de 13.7 mg.L^{-1} de Ca et 37.5 mg.L^{-1} de Mg). Les concentrations utilisées par van der Heijden et al en 2017 étaient environ 10 fois supérieures à celles utilisées en 2018 (van der Heijden et al., 2018), ce qui pourrait expliquer les différences de pools isotopiquement échangeables entre ces 2 études.
- 3) les propriétés physico-chimiques des sols : elles peuvent aussi influencer les résultats de l'approche par dilution isotopique, au travers notamment des processus d'échanges et de diffusion pouvant se produire à des vitesses différentes en fonction des propriétés du sol.

Bien que l'approche par dilution isotopique soit à ce jour la méthode la plus adéquate pour quantifier le pool source/puits de cations nutritifs contribuant directement à la biodisponibilité de ces éléments (Fardeau 1993; Frossard and Sinaj 1997; Hamon et al. 2002; Sterckeman et al. 2009), la complexité de sa mise en œuvre (risques de contamination d'échantillons) et son coût (coût du matériel isotopiquement enrichi et coûts analytiques) sont des freins à son utilisation à grande échelle en tant qu'analyse de sol de routine.

L'objectif de ce chapitre est de comparer différentes méthodes d'une part expérimentales et d'autre part de modélisation pour définir les approches les plus appropriées pour étudier la biodisponibilité du Ca, Mg et K dans les sols. Pour ce faire, ce chapitre s'articule autour de deux grands objectifs qui sont de i) comparer deux méthodes expérimentales d'équilibre isotopique (approche par colonne de sol percolée et par agitation) pour quantifier les pools isotopiquement échangeables et tracer les phases du sol contribuant à ces pools isotopiquement échangeables et ii) investiguer la possibilité d'établir des méthodes indirectes de quantification du pool isotopiquement échangeable en modélisant les pools isotopiquement échangeables à partir de mesures physico-chimiques du sol n'utilisant pas d'outils isotopiques.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Sites d'étude

2.1.1. Sélection des sites d'études

Vingt-six sites répartis sur quatre pays ont été sélectionnés parmi différents réseaux d'expérimentation et de suivis sur le long terme d'écosystèmes forestiers (**Fig. II-1**).

- 11 sites français du réseau RENECOFOR niveau 3 (campagne 1 et 2)
- 4 sites suédois du réseau ICP-Integrated Monitoring
- 10 sites expérimentaux des réseaux ANAEE et IN SYLVA
- 1 site du Luquillo Critical Zone Observatory à Puerto Rico (Etats-Unis).

Les sites ont été sélectionnés dans le but de couvrir une large gamme de sols acides (pH_{eau} de l'horizon de surface <6), non-hydromorphes, répartis dans des conditions climatiques, édaphiques (notamment leur fertilité chimique) et de couverts forestiers contrastés. Notre échantillonnage s'est focalisé sur les sols acides parce qu'ils représentent une large proportion des écosystèmes forestiers mondiaux et parce que les forêts développées sur sol acide et pauvres en nutriments sont par définition plus sensibles aux perturbations extérieures (Hansson et al. 2020; Legout et al. 2020). La durabilité de leur fertilité chimique sur le long terme est une préoccupation forte pour la gestion forestière dans un contexte de changement global et de pressions accrues sur les écosystèmes forestiers (van der Heijden et al. 2014a; Hansson et al. 2020; Legout et al. 2020). Les réseaux équipés pour un suivi intensif ont spécifiquement été

retenus et la sélection a été opérée en tenant compte de la disponibilité des échantillons archivés et de l'accessibilité aux bases de données associées (e.g. propriétés physico-chimiques des sols).

Lorsque plusieurs profils de sol ont été échantillonnés au sein d'une même placette, un échantillon composite a été construit à partir des répliques. Pour limiter le nombre d'échantillons de sol par placette, lorsque plus de 5 couches de sol avaient été échantillonnées au sein d'un profil, 5 échantillons ont été soit retenus, soit construits (composite) afin de couvrir l'ensemble du profil de sol. Chaque placette est dominée par une essence d'arbre. Mise à part les sites suédois (situés dans des réserves naturelles), les peuplements forestiers de chaque placette sont gérés en suivant les plans de gestion forestière locaux. Les sites sont composés de placettes témoins n'ayant pas reçu de fertilisation, excepté à Itatinga (Brésil) où une fertilisation de fond ($300\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ NPK – 10:20:20) est pratiquée sur chaque parcelle à chaque rotation sylvicole (de façon similaire aux plantations commerciales).

La base de données est composée de 177 échantillons individuels et regroupe (**Tabl II-1**)

- 5 grands types de sol : Cambisol (9 sites), Podzol (8 sites), Andosol (2 sites), Luvisol (5 sites) et Ferralsol (2 sites) ;
- 11 essences : *Abies alba* Mill. (2 sites), *Picea abies* (L) H. Karst (8 sites), *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (6 sites), *Pinus sylvestris* L. (1 site), *Fagus sylvatica* L. (5 sites), *Quercus robur* L. (1 site), *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (4 sites), forêt mixte *Quercus robur* et *petraea* (1 site), *Eucalyptus spp.* L'Hér. (1 site) et *Dacryodes excelsa* Vahl. (1 site)
- 3 zones climatiques : tempérée, tropicale et boréale

2.1.2. Bases de données et propriétés physico-chimiques des sites d'études

La base de données a été initialement compilée à partir de jeux de données provenant de différents laboratoires et dont les analyses de sols ont été réalisées selon différents protocoles de mesure. Les propriétés physiques et chimiques de la base de données incluent:

- La distribution granulométrique des 3 fractions (*i.e.* argile, limon, sable) et la densité apparente.

- Le carbone et azote total mesurés par combustion humide (méthode Kjeldhal pour N ; méthode Walkey and Black ou Anne pour C) ou par combustion sèche.
- Les cations dits échangeables (mesurés après une extraction de sol avec une solution de sel concentré : KCl (1 mol.L⁻¹), BaCl₂ (0.1 mol.L⁻¹), NH₄OAc (1 mol.L⁻¹) ou par chlorure de cobaltihexamine (1 mol.L⁻¹). La somme des ‘bases échangeables’ et l’acidité d’échange ont été respectivement définies comme étant la somme de Ca, Mg et K, et la somme d’Al et H. La capacité d’échange cationique effective (ECEC) a été calculée en sommant les ‘bases échangeables’ et l’acidité d’échange.
- La base de données inclut également pour un nombre restreint d’échantillons de sol des extractions spécifiques de phases du sol : extraction Tamm (Tamm 1932), Tamura (Tamura 1958), Mehra-Jackson (Mehra 1958) et pyrophosphate.

2.2. Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium

2.2.1. Concept général de la mesure des pools isotopiquement échangeables

La technique de dilution isotopique a été décrite comme l’approche la plus adéquate pour mesurer les pools de nutriments et de polluants dans le sol (pool isotopiquement échangeable) qui contribuent directement aux réactions d’équilibre géochimique entre les phases solide et liquide du sol (Hamon et al. 2002). Selon la définition donnée par Ebelhar (2008), le pool isotopiquement échangeable (noté E) correspond à la quantité d’un ion stocké dans la phase solide du sol qui peut s’échanger rapidement avec les ions du même élément dans la solution du sol, remplaçant ainsi progressivement ces ions dans la solution suite à leur perte (prélèvement des plantes, lixiviation avec les eaux de drainage ou d’autres flux de sortie).

Succinctement, cette approche consiste à mettre en contact un échantillon de sol avec une solution contenant des traceurs isotopiques. Des échanges entre les phases liquide et solide (échanges ioniques, diffusion, altération, etc) causent une diminution de l’enrichissement isotopique de la solution du sol par le mélange de la solution de traçage initiale (enrichie) et les pools du sol (non-enrichis). La variation de la composition isotopique de la solution du sol au cours du temps permet de mesurer les pools isotopiquement échangeables.

La technique de dilution isotopique est une technique bien établie et reconnue pour mesurer les pools de phosphore biodisponible dans le sol (Sen Tran et al. 1988) et de polluants tels que le cadmium, mercure, plomb, nickel, etc. (Hamon et al. 2002; Sterckeman et al. 2009; Shetaya et

al. 2017). Très peu d'études ont appliqué cette approche pour quantifier les pools biodisponibles de cations nutritifs (pool isotopiquement échangeable noté E_{Ca} , E_{Mg} et E_K) et ces études ont eu recours aux radioisotopes de ces éléments (Blume and Smith 1954; Reeve and Sumner 1969; Masozera and Bouyer 1971; Fardeau et al. 1979). Dans le cadre de ce travail de thèse, les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K ont été quantifiés en utilisant la technique de dilution isotopique avec les isotopes stables des trois cations d'intérêt : ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K . Cette approche a été testée et validée par des essais préliminaires à ce projet de thèse (van der Heijden et al. 2017, 2018).

2.2.2. Approches expérimentales

2.2.2.1. Solution de traçage

Une solution de traçage enrichie en ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K (concentration : 800, 200 et 500 $\mu g.L^{-1}$) a été fabriquée à partir de composés artificiellement enrichis $^{44}CaCO_3$ (96.45 atom% ^{44}Ca), ^{26}MgO (99.25 atom% ^{26}Mg) et ^{41}KCl (97 atom% ^{41}K) dissouts dans de l'eau ultrapure (Millipore 18.2 Ω). Le pH_{eau} de la solution a été ajusté pour correspondre pH_{eau} de chaque échantillon de sol par l'ajout d'acide nitrique purifiée (HNO_3 - 69% doublement distillé).

2.2.2.2. Choix des approches expérimentales

Plusieurs méthodologies permettent la mesure des pools isotopiquement échangeables. La méthode par agitation est la plus fréquemment employée dans les études sur le phosphore labile et les éléments traces métalliques. Les résultats de précédents essais (van der Heijden et al. 2017, 2018) dédiés à la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K selon différentes méthodologies (*i.e.* dispositif en agitation et en percolation) ont conduit à préconiser l'utilisation de la méthode en percolation. Cette dernière présente l'avantage i) d'être plus proche des conditions naturelles (rapport sol:solution de traçage proche de la capacité au champ) et ii) de ne pas déclencher de processus non-souhaité/indésirable, comme par exemple des processus d'altération (observés en cours d'expérimentation pour les approches en agitation). Pour autant, ces précédents essais n'ont été conduits que sur un seul type de sol et des essais complémentaires sur un plus large panel de sol sont nécessaires, pour affiner les recommandations sur la méthode la plus adéquate. Dans cette étude, deux approches expérimentales ont donc été utilisées pour mesurer les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K : une méthode par agitation et une autre par percolation, détaillées ci-dessous.

Dispositif en agitation

Dans le dispositif en agitation (**Fig II-7**), chaque réacteur est composé de 2.5g de sol sec tamisé à 2mm, pesé dans des tubes Falcon en polypropylène de 50 mL dans lesquels 50 mL de solution de traçage ont été introduits. Les réacteurs ont été hermétiquement fermés et mis en agitation continue. Après 1h, 6h, 24h et 48h, les réacteurs ont été centrifugés (3000 rpm) durant 20 min afin de prélever 12.5 mL de surnageant pour les analyses élémentaire et isotopique. Le culot de sol a été remis en suspension via un agitateur vortex puis remis en agitation continue jusqu'au pas de temps suivant.

Le choix du dernier pas de temps des cinétiques de dilution dans le système en agitation a été basé sur les résultats des précédents essais (van der Heijden et al. 2018). Dans cette étude, des processus d'altération et/ou de déstabilisation de phases organo-minérales se sont déclenchés après 48h d'agitation. Afin d'éviter ce biais méthodologique, le temps de contact entre la solution de traçage et l'échantillon de sol a été fixé à 48h.

Dispositif en percolation

Dans le dispositif en percolation (**Fig II-8**), chaque réacteur est composé de 2.5g de sol sec tamisé à 2mm, pesé dans une colonne chromatographique en polypropylène et équipée d'un filtre fritté en polypropylène de porosité 45-90 μ m (Evergreen Scientific). Chaque réacteur fonctionne en circuit fermé et a été percolé avec 50 mL de solution de traçage contenu dans un tube Falcon de 50 mL acheminée par une pompe péristaltique. La solution de traçage arrive à la surface de la colonne de sol en goutte à goutte afin d'éviter des processus de compaction et d'écoulements préférentiels le long des parois de la colonne. Après avoir percolé à travers la colonne de sol, le percolat est réinjecté dans le réservoir de solution de traçage par une autre pompe péristaltique. Les flux d'entrée sont maintenus constants tout au long de l'expérimentation. La dilution isotopique est suivie en prélevant dans la solution de traçage 12.5 mL d'aliquote après 1h, 6h, 24h et 168h (7 jours). Avant la réalisation des extractions séquentielles à l'issue du dernier prélèvement, la colonne de sol a été transférée dans un tube Falcon de 50 mL en injectant sur le bas de la colonne, 10 mL de la première solution d'extraction (acétate d'ammonium 1 mol.L⁻¹) puis compléter avec 40 mL de solution d'extraction.

Dans le système en percolation, la vitesse de renouvellement de la solution à l'interface solide-liquide est moindre en comparaison avec l'approche en agitation. Ainsi il est attendu que la durée pour atteindre l'équilibre soit plus longue avec l'approche en percolation en comparaison de l'approche en agitation. Dans des précédents essais (van der Heijden et al. 2017, 2018), les cinétiques d'échange ont été conduites sur une durée de deux semaines (336h) et les résultats ont montré que l'équilibre isotopique était établi à partir de 7 jours (168h). La durée des cinétiques d'échanges dans le système en percolation a donc été fixée à 7 jours (168h), en s'appuyant sur ces précédents résultats.

2.2.2.3. Extractions séquentielles des compartiments du sol

A l'issue des derniers prélèvements dans la solution de traçage, les réacteurs sont conservés pour le système en agitation et le culot de sol est transféré dans un tube Falcon de 50 mL pour le système en percolation, afin de réaliser quatre extractions séquentielles :

5. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 1h. Ci-après intitulé NH₄#1 ;
6. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 24h. Ci-après intitulé NH₄#2 ;
7. 50 mL d'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1} , tamponné à pH = 3) et agité continuellement durant 3h ;
8. 50 mL d'acide nitrique purifié (1 mol.L^{-1}) et agité continuellement durant 20h. Ci-après intitulé HNO₃.

Les deux premières extractions à l'acétate d'ammonium ciblent les cations échangeables. L'extraction à l'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1}) tamponné à pH 3 a été réalisée pour s'assurer que l'ensemble des cations échangeables soit extrait avant la dernière extraction à l'acide nitrique. L'acide nitrique (1 mol.L^{-1}) est une extraction forte et non sélective, capable de dissoudre de nombreuses phases secondaires tel que les allophanes, les complexes organométalliques de fer et d'aluminium et partiellement les (hydr)oxydes d'aluminium et de fer, certains argiles (e.g. vermiculite, chlorite, smectite) et des minéraux primaires facilement altérables (e.g. biotite, muscovite) (Nezat et al. 2007).

2.3. Méthodes d'analyses

2.3.1. Mesure des concentrations élémentaires

Les concentrations des éléments majeurs et traces dans les solutions de traçage et les extractions de sol ont été mesurées par spectroscopie d'émission atomique par plasma induit (AGILENT 7500 series).

2.3.2. Mesure des rapports isotopiques

Les rapports isotopiques $^{44/40}\text{Ca}$, $^{24/26}\text{Mg}$ et $^{41/39}\text{K}$ ont été mesurés par ICP-MS quadripolaire (spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif ; Analytik Jena 820MS). Chaque rapport isotopique est mesuré séparément.

La réponse du détecteur n'étant pas linéaire aux concentrations en Ca, Mg et K, trois aliquotes ont été constituées par échantillon pour la mesure des trois rapports isotopiques, puis dilués ou concentrés afin d'obtenir une concentration de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour Ca et Mg et $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour K. Pour prévenir des interférences matricielles à l'analyse isotopique, les extraits d'acétate d'ammonium ont été minéralisés avec 5 mL d'eau oxygéné (H_2O_2 30%) après évaporation complète de la solution d'extraction. Les échantillons ont été refermés non-hermétiquement et laissé 1 semaine sur une plaque chauffante à 70°C . A l'issue de la minéralisation, les échantillons ont été évaporés complètement et les résidus secs ont été remis en solution avec de l'eau Millipore acidifiée à 1% avec de l'acide nitrique purifié (HNO_3 69%).

En raison de la non-linéarité de la réponse du détecteur à l'enrichissement de ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K , une correction du biais de masse a été réalisée par la méthode d'encadrement par 2 standards internes enrichies de ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K et mesurés tous les 12 échantillons. Les standards ont été sélectionnés en s'assurant que les rapports isotopiques des standards encadraient bien ceux des échantillons.

2.4. Méthode de calcul

Pool isotopiquement échangeable

Par définition, le pool isotopiquement échangeable est en équilibre avec la solution du sol Sa quantification repose sur le postulat que leurs signatures soient égales. Suivant ce postulat, le pool isotopiquement échangeable peut être calculé à partir de l'enrichissement isotopique mesuré dans la solution selon l'équation (1) (les équations sont données pour le Mg) :

$$E_{Mg} = Mg_{traceur} \times \left(\frac{1}{\alpha_{solution}^{Mg}} - 1 \right) \quad (1)$$

Où E_{Mg} est le pool isotopiquement échangeable en $\mu\text{g.g}$ de sol sec^{-1} , $Mg_{traceur}$ est la quantité de traceur ajoutée au système en $\mu\text{g.g}$ de sol sec^{-1} et $\alpha_{solution}^{Mg}$ représente la fraction de Mg dans la phase liquide provenant de la solution de traçage et est calculée selon l'équation (2) :

$$\alpha_{solution}^{Mg} = \frac{(\%^{26}\text{Mg})_{solution} - (\%^{26}\text{Mg})_{nat}}{(\%^{26}\text{Mg})_{label} - (\%^{26}\text{Mg})_{nat}} \quad (2)$$

Où $\%^{26}\text{Mg}_{solution}$ représente l'abondance atomique en ^{26}Mg dans la solution, $\%^{26}\text{Mg}_{nat}$ l'abondance naturelle en ^{26}Mg , et $\%^{26}\text{Mg}_{traceur}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage enrichie.

Contribution des différents pools de Mg, Ca et K extraits du sol au pool isotopiquement échangeable

La distribution relative des traceurs isotopiques dans les différents compartiments extraits du sol peut être utilisée pour quantifier la contribution relative de chaque compartiment extrait (*i.e.* $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3) au pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg et K. Cette contribution relative est calculée en divisant la quantité de traceur retrouvée dans chaque compartiment (recouvrement de traceur) par la somme des quantités de traceur retrouvées dans les trois compartiments extraits.

Fraction isotopiquement échangeable de chaque pool de Mg, Ca et K extraits du sol

La fraction isotopiquement échangeable de chaque compartiment extrait (*i.e.* $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3) est calculée selon le postulat que la composition isotopique du pool isotopiquement échangeable est égale à celle dans la phase liquide (équation (3)) :

$$\alpha_{pool}^{IE Mg} = \frac{(\%^{26}\text{Mg})_{compartiment} - (\%^{26}\text{Mg})_{nat}}{(\%^{26}\text{Mg})_{solution} - (\%^{26}\text{Mg})_{nat}} \quad (3)$$

Où $\%^{26}\text{Mg}_{compartiment}$ est l'abondance atomique en ^{26}Mg dans les compartiments extraits et $\%^{26}\text{Mg}_{solution}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage au dernier pas de temps

de la cinétique de dilution isotopique (*i.e.* 168h et 48h respectivement en percolation et en agitation).

Notation des différents pools utilisés

Différentes données de pools de Ca, Mg et K sont utilisés dans cette étude :

- Pool échangeable conventionnel de Ca, Mg et K noté $Exch_Conv_{Ca}$, $Exch_Conv_{Mg}$ et $Exch_Conv_K$
- Pool de Ca, Mg et K extrait par la solution de traçage (noté $Ca_Solution$, $Mg_Solution$, $K_Solution$). Ce pool représente les quantités de Ca, Mg ou K mesurées dans la solution de traçage à l'issue de l'équilibre isotopique.
- Pool échangeable expérimental de Ca, Mg et K (noté $Exch_Exp_{Ca}$, $Exch_Exp_{Mg}$ et $Exch_Exp_K$). Ces pools ont été construits en additionnant les quantités élémentaires de Ca, Mg ou K trouvées dans la solution de traçage à l'issue de la dilution isotopique ainsi que des quantités de Ca, Mg ou K extraits par les deux extractions à l'acétate d'ammonium.

2.5. Limites de quantification

Lorsqu'un échantillon était en dessous de la limite de quantification (concentration élémentaire ou enrichissement isotopique), le recouvrement de traceur isotopique dans cet échantillon a été défini comme nul. Pour la mesure des concentrations élémentaires de Ca, Mg et K, les limites de quantification sont données dans le **tableau II-3** selon le type d'échantillon (solution de sol, extraction acétate d'ammonium ou acide nitrique). Pour l'enrichissement isotopique, la limite de quantification a été établie à 10‰ pour le ^{44}Ca et ^{26}Mg , et 20‰ pour le ^{41}K . Cette limite de quantification a été définie en fonction, d'une part, de la variabilité naturelle des rapports isotopiques stables du Ca, Mg et K dans les différents réservoirs de la planète et, d'autre part, de la précision et répétabilité des mesures de rapports isotopiques par l'ICP-MS quadripolaire (van der Heijden et al. 2013a, 2014b). Pour les échantillons dont les concentrations étaient trop faibles pour permettre la conduction d'analyse isotopique, leurs concentrations ont été considérées comme étant sous la limite de détection.

2.6. Validation post-analytique des échantillons

Les échantillons isotopiquement enrichis sont particulièrement sensibles aux contaminations. Bien que toutes les précautions aient été prises pour limiter ces contaminations, le Ca, Mg et K

sont des éléments très abondants et les échantillons liquides peuvent être facilement contaminés pour diverses raisons (vaisselle de laboratoire non-propre, poussières dans l'atmosphère, etc.). Une contamination même faible en concentration élémentaire peut engendrer une variation forte des rapports isotopiques et ainsi un biais important dans l'interprétation des résultats. Les résultats associés à chaque échantillon ont donc été vérifiés selon une liste de critères stricts permettant d'exclure les échantillons contaminés. Puisqu'il n'y a pas nécessairement de relations entre les contaminations potentielles en Ca, Mg ou K, les critères de validation ci-dessous ont été appliqués indépendamment pour chacun des trois éléments :

1. **Base de données des pools isotopiquement échangeables E_{Ca} , E_{Mg} et E_K .** Chaque cinétique de dilution isotopique est constituée de quatre mesures de la solution en contact avec le sol (concentration élémentaire et rapport isotopique). Si au moins une de ces quatre mesures était manquante (e.g. perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.), le pool isotopiquement échangeable ne pouvait être calculé. D'après le concept de dilution isotopique, il est attendu que l'enrichissement isotopique dans la solution du sol diminue au cours du temps de manière monotone. Une rupture de la monotonie de la courbe de dilution isotopique suggère qu'un point d'échantillonnage de la cinétique a été contaminé. Dans de tels cas, le pool isotopiquement échangeable de cet échantillon a été considéré comme invalide et retiré du jeu de données.
2. **Base de données d'extractions de sol.** Pour un échantillon de sol, si au moins une des trois extractions de sol (*i.e.* $NH_4\#1$, $NH_4\#2$ and HNO_3) était manquante (e.g. perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.) ou si le recouvrement de traceur cumulé sur l'ensemble du système (solution + sol) était supérieur à 120% de la quantité de traceur apportée initialement avec la solution de traçage, les données d'extractions du sol ont été considérées comme invalides et été retirées du jeu de données.

Après validation, le jeu de données retenu pour E_{Ca} , E_{Mg} et E_K est composé de 43 échantillons pour le Ca (7 sites), de 45 échantillons pour le Mg (8 sites) et de 71 échantillons pour le K (8 sites). Le jeu de données validé pour les extractions de sol est quant à lui composé de 72 échantillons pour le Ca (9 sites), de 89 échantillons pour le Mg (9 sites) et de 92 échantillons pour le K (8 sites).

2.7. Méthodes statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R : version 3.6.1 (<http://www.r-project.org/>). L'ensemble des figures ont été réalisées au moyen du package ggplot2 (Wickham 2009).

Le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (échantillons appariés) a été utilisé pour tester la significativité statistique des différences entre les deux dispositifs expérimentaux (concentrations élémentaires dans les différents compartiments extraits, pools isotopiquement échangeables). Pour ces tests, la normalité des distributions a été évaluée par un test Shapiro-Wilk, et l'homoscédasticité par un test de Levene.

Les corrélations entre les différentes variables du jeu de données ont été calculées par le test de corrélation de Spearman. La significativité de l'ensemble des tests a été fixée au risque $\alpha < 0.05$.

Les différences relatives entre les deux approches représentent systématiquement le rapport d'une variable en agitation sur la même variable en percolation ($X_{\text{agitation}}:X_{\text{percolation}}$).

Des modèles linéaires multivariés ont été ajustés afin de prédire les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K mesurés par le dispositif expérimental en agitation dans les différents échantillons de sol en fonction des propriétés physico-chimiques conventionnelles des sols pour un premier type de modèles et en fonction des pools de Ca, Mg et K extraits du sol lors de l'expérience de dilution isotopique. Les différents modèles linéaires multivariés ont été établis en sélectionnant une population initiale de variables explicatives. Itérativement, un modèle a été ajusté avec l'ensemble des variables explicatives de la population. A chaque itération, la variable explicative, dont le paramètre était 1) non significatif et 2) dont la p-value était la plus élevée, a été retirée de la population. Ce processus a été répété jusqu'à obtenir un modèle pour lequel les paramètres de toutes les variables explicatives étaient statistiquement significatifs.

Les populations initiales de variables étaient composées comme suit.

1. **Pour les modèles linéaires multivariés en fonction des propriétés physico-chimiques conventionnelles** (pour Mg, Ca et K) : les fractions granulométriques (argiles, limons, sables), la densité apparente, la proportion d'éléments grossiers, le pH du sol (pH_{eau} et pH_{KCl} ou $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$), le carbone et azote total, le phosphore échangeable, les teneurs échangeables de K, Na, Ca, Mg, H, Mn, Al, Fe, l'acidité d'échange, le taux de saturation de la CEC en

Ca, Mg et K sommés, et en Ca, Mg et K individuel, la somme des teneurs échangeables en Ca+Mg+K et la capacité d'échange cationique.

- 2. Pour les modèles linéaires multivariés en fonction des pools de Ca, Mg et K extraits du sol lors de l'expérience de dilution isotopique :** les pools de Ca_Solution, Ca_NH₄#1, Ca_NH₄#2 et Ca_HNO₃ pour le modèle Ca ; les pools de Mg_Solution, Mg_NH₄#1, Mg_NH₄#2 et Mg_HNO₃ pour le modèle Mg ; les pools de K_Solution, K_NH₄#1, K_NH₄#2 et K_HNO₃ pour le modèle K.

3. Résultats

3.1. Comparaison des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K en fonction de la méthode.

Sur l'ensemble du jeu de données d'échantillons validés, les pools isotopiquement échangeables (E_x) étaient supérieurs en agitation pour la grande majorité des échantillons de sol : 88%, 84% et 99% des échantillons validés respectivement pour le Ca, Mg et K. Les ratios des pools E_x mesurés par agitation sur les pools E_x mesuré en percolation ($E_{x_agit} : E_{x_perc}$) varient de 0.8 à 2.5 (médiane : 1.3) pour le Ca, de 0.9 à 2.4 (médiane : 1.1) pour le Mg et de 0.7 à 2.6 (médiane : 1.6) pour le K (**Fig III-1**). Les différences entre les pools E_x en agitation et en percolation étaient statistiquement significatives (test de Wilcoxon-Mann-Whitney apparié) pour les trois éléments (p-value < 0.001), bien que le critère d'homoscédasticité ne soit pas respecté pour le K.

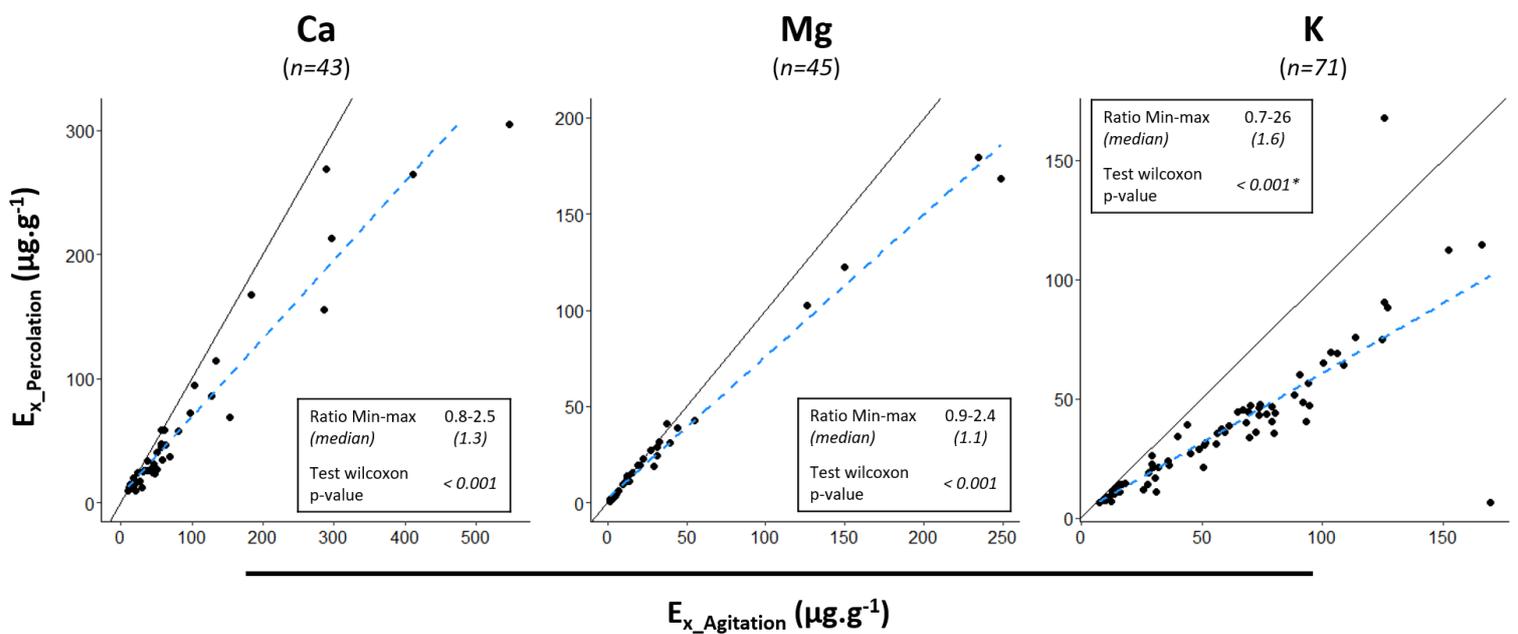


Figure III-1. Comparaison entre dispositifs des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. Les droites pleines et en pointillées représentent respectivement $y:x = 1$ et la régression linéaire. La distribution des ratios $E_{x_agitation}:E_{x_percolation}$ et les p-value des tests de comparaison de Wilcoxon-Mann-Whitney sont données dans le tableau. L'astérisque indique que le critère d'homoscédasticité n'est pas respecté. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses.

Les représentations de Bland-Altman illustrent bien ce biais quasi-systématique entre les méthodes pour les trois éléments (**Fig III-2**) : les différences sont essentiellement positives et varient de -3.2 à - 242 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (moyenne : 26.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) pour le Ca, de -3.3 à - 80 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (moyenne : 5.34 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) pour le Mg et de -42 à - 163 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (moyenne : 23.02 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) pour le K. Les résultats montrent une structuration du jeu de données où les différences entre les méthodes sont fortement corrélées à la taille des pools E_x . Les coefficients de corrélation sont respectivement de 0.82, 0.92 et 0.48 pour le Ca, Mg et K (p -value < 0.001). Pour les valeurs faibles de E_x les différences entre les méthodes sont très faibles pour le Ca, Mg et K et distribuées autour de zéro pour le Ca et Mg. Contrairement au Ca et K, les différences entre méthodes ne sont plus significatives pour le Mg lorsque les pools isotopiquement échangeables sont en-dessous de 30 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

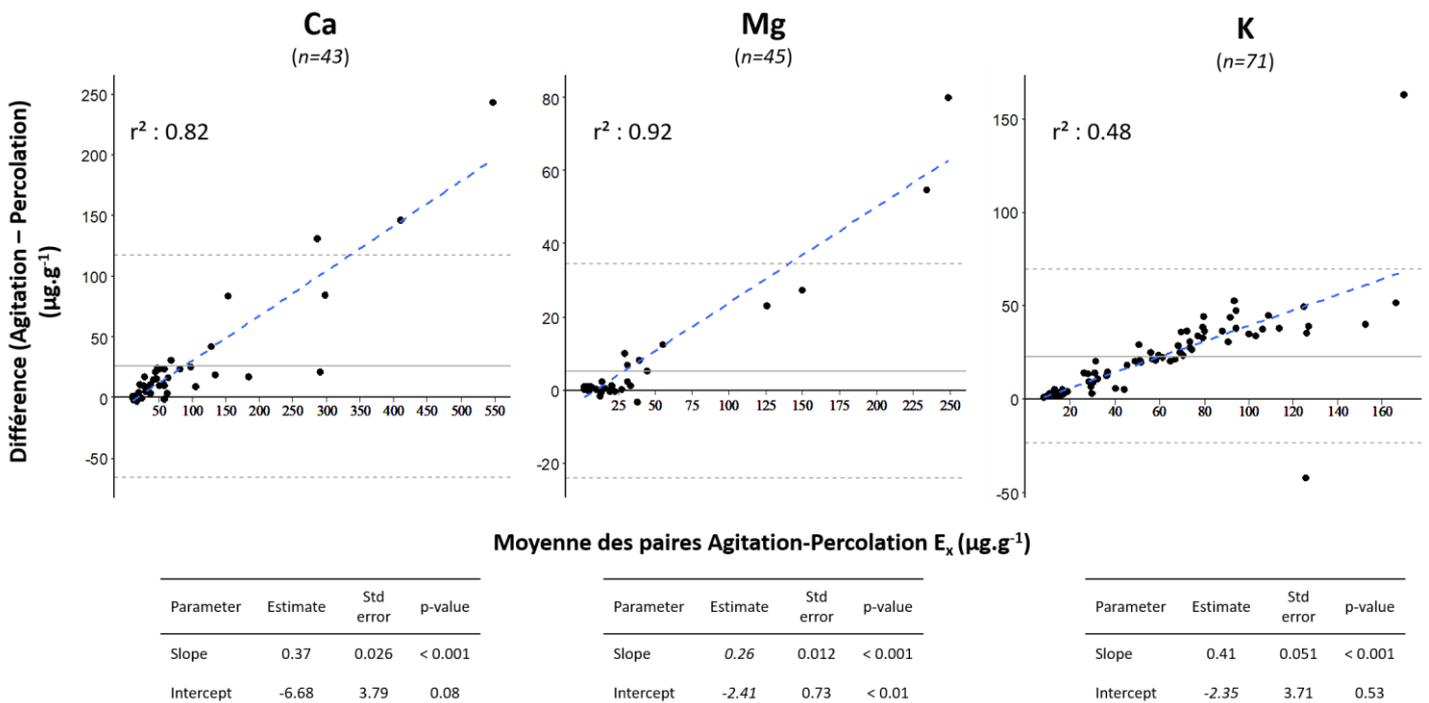


Figure III-2. Représentation de Bland-Altman des différences des paires ($E_{x_agitation} - E_{x_percolation}$) exprimés en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en fonction des moyennes des paires exprimés en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Les droites bleues représentent les régressions linéaires ajustées sur le jeu de données. Les droites horizontales pleines et en pointillées représentent respectivement les moyennes des différences et les intervalles ± 1.96 écart-type. Le nombre d'échantillons (n) est indiqué entre parenthèses.

3.2. Equilibre isotopique et élémentaire

Pour l'ensemble du jeu de données, l'équilibre isotopique semble atteint pour les trois systèmes isotopiques et pour les deux dispositifs expérimentaux (**Fig III-3**). Les tests de comparaison montrent des différences significatives en agitation pour le Ca, Mg et K entre l'avant-dernier et les derniers pas de temps (p -value < 0.001) ainsi que pour le K en percolation (p -value < 0.001). Cependant, les différences relatives entre les derniers et l'avant-dernier pas de temps sont faibles, les ratios $E_{x_{24h}}:E_{x_{48h}}$ médians sont de 1.02 pour le Ca, 1.03 pour le Mg et 1.03 pour le K en agitation et le ratio $E_{x_{24h}}:E_{x_{168h}}$ médian est de 0.95 pour le K en percolation. Pour les pools E_{Ca} et E_{Mg} en percolation, les différences ne sont pas significatives (p -value 0.28 et 0.10 respectivement pour le Ca et Mg) et varient de 0.82 à 1.78 (médiane : 1.09) pour le Ca et de 0.84 à 1.40 (médiane : 1.03) pour le Mg.

En agitation, l'équilibre élémentaire a été atteint pour le Ca, Mg, K et l'Al (**Fig III-4 et III-5**). Les concentrations entre l'avant-dernier et le dernier pas de temps n'évoluent plus ou très légèrement sauf pour l'Al dans la gamme haute de concentration ($> 9500 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). En percolation, pour une large proportion des échantillons, les concentrations de Ca, Mg, K et Al diminuent fortement entre l'avant-dernier et le dernier pas de temps. Les ratios des concentrations à 168h sur les concentrations à 24h varient de 0.12 à 2.83 (médiane 0.92) pour le Ca, de 0.16 à 2.82 (médiane : 0.80) pour le Mg, de 0.07 à 1.18 (médiane : 0.49) pour le K et de 0.11 à 8.06 (médiane : 0.56) pour l'Al. Les différences sont significatives (p -value < 0.001) d'après les tests de comparaison (Wilcoxon-Mann-Whitney apparié), bien que le critère d'homoscédasticité ne soit pas respecté pour les quatre éléments.

L'équilibre élémentaire n'a pas été atteint pour les deux éléments Fe et Si dans les deux dispositifs (**Fig III-5**). Pour ces deux éléments, les concentrations augmentent entre l'avant-dernier et les derniers pas de temps. Dans le dispositif en agitation, l'augmentation des concentrations de Si est quasi-systématique : le ratio de concentration $Si_{48h}:Si_{24h}$ médian est de 1.87. Pour le dispositif en percolation, l'augmentation est plus franche et les différences sont plus marquées pour les concentrations les plus élevées et varient de 0.01-5.89 (médiane : 2.18).

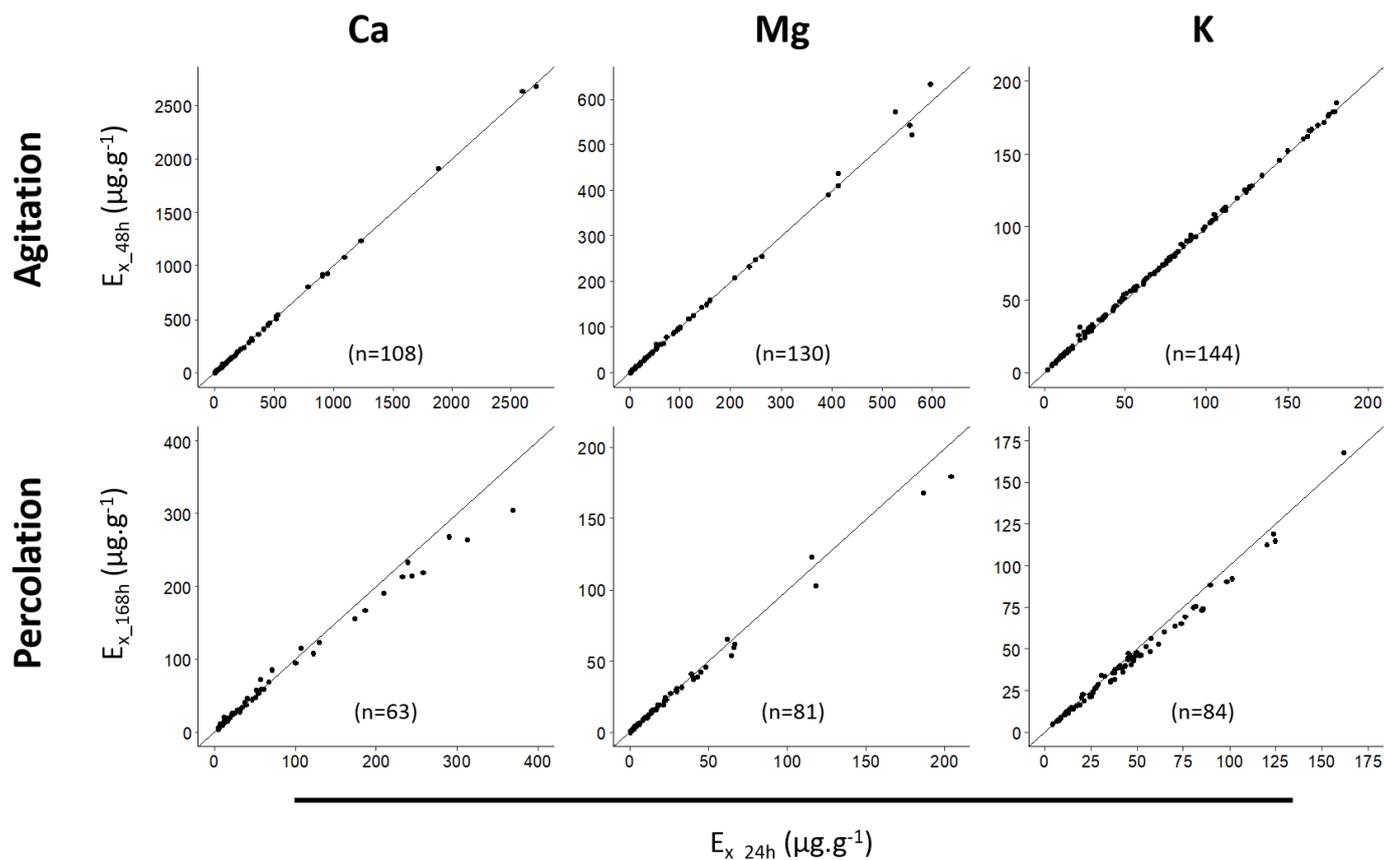


Figure III-3. Evolution des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$. Le nombre d'échantillons validés (n) pour chaque dispositif et chaque élément est indiqué entre parenthèses.

L'augmentation du Fe semble suivre les mêmes tendances que le Si pour chaque dispositif, bien que les différences soient moins marquées. Pour le dispositif en agitation, les concentrations en Fe entre les deux pas de temps sont similaires pour des valeurs inférieures à $500 \mu\text{g.L}^{-1}$. Pour les valeurs supérieures à $500 \mu\text{g.L}^{-1}$, les différences évoluent peu avec la concentration et varient de 0.28-9.14 (médiane : 1.08). Pour le dispositif en percolation, les différences sont très variables pour des concentrations inférieures à $2000 \mu\text{g.L}^{-1}$ et augmentent pour des concentrations plus élevées. Les différences de concentrations varient de 0.25-3.33 (médiane 1.29). Les différences de concentrations de Fe et Si sont significatives ($p\text{-value} < 0.001$) pour les deux dispositifs (Wilcoxon-Mann-Whitney apparié) bien que le critère d'homoscédasticité ne soit pas respecté pour le Si (agitation et percolation).

Figure III-4. Evolution des concentrations élémentaires de Ca, Mg et K en solution entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$.

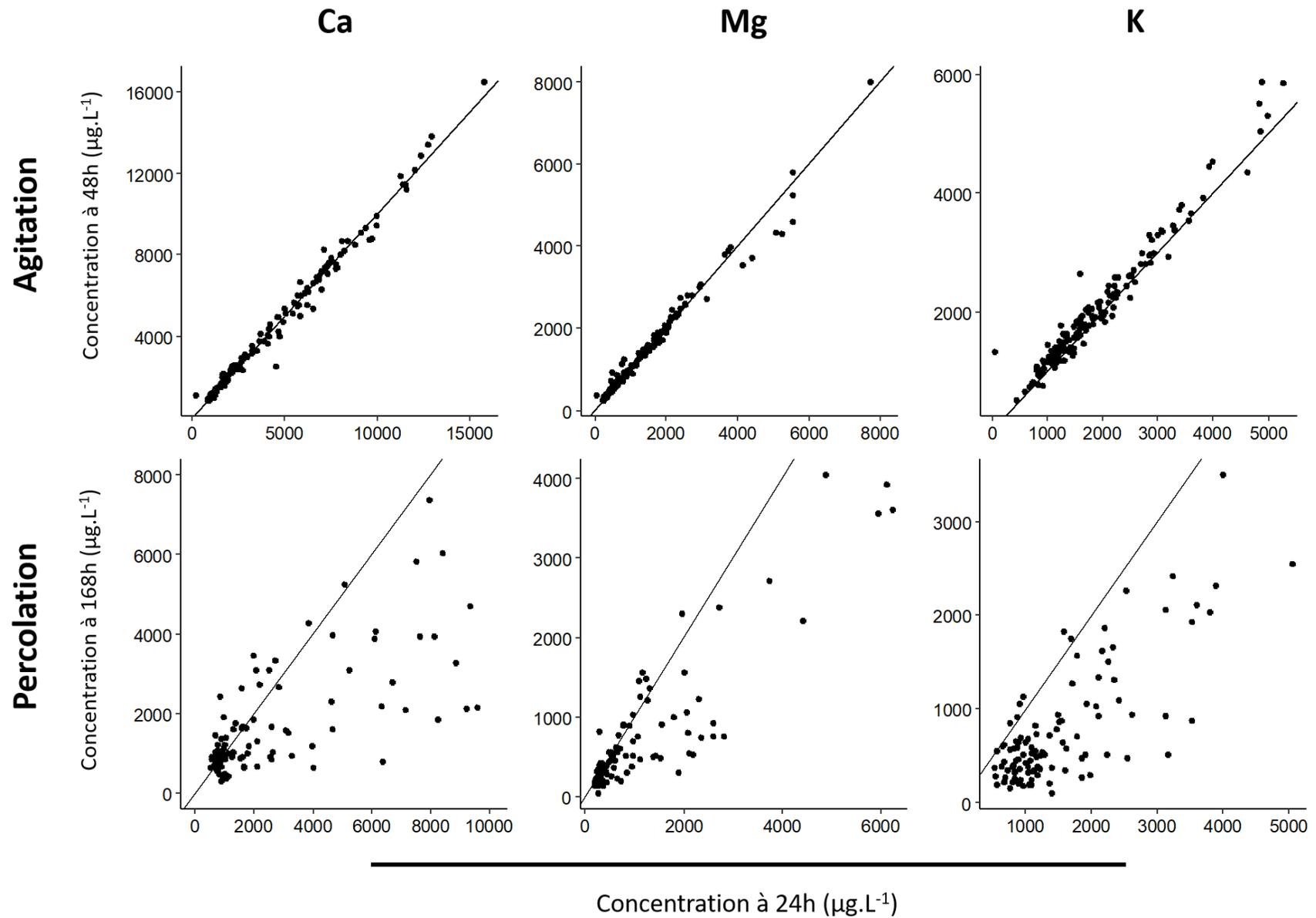
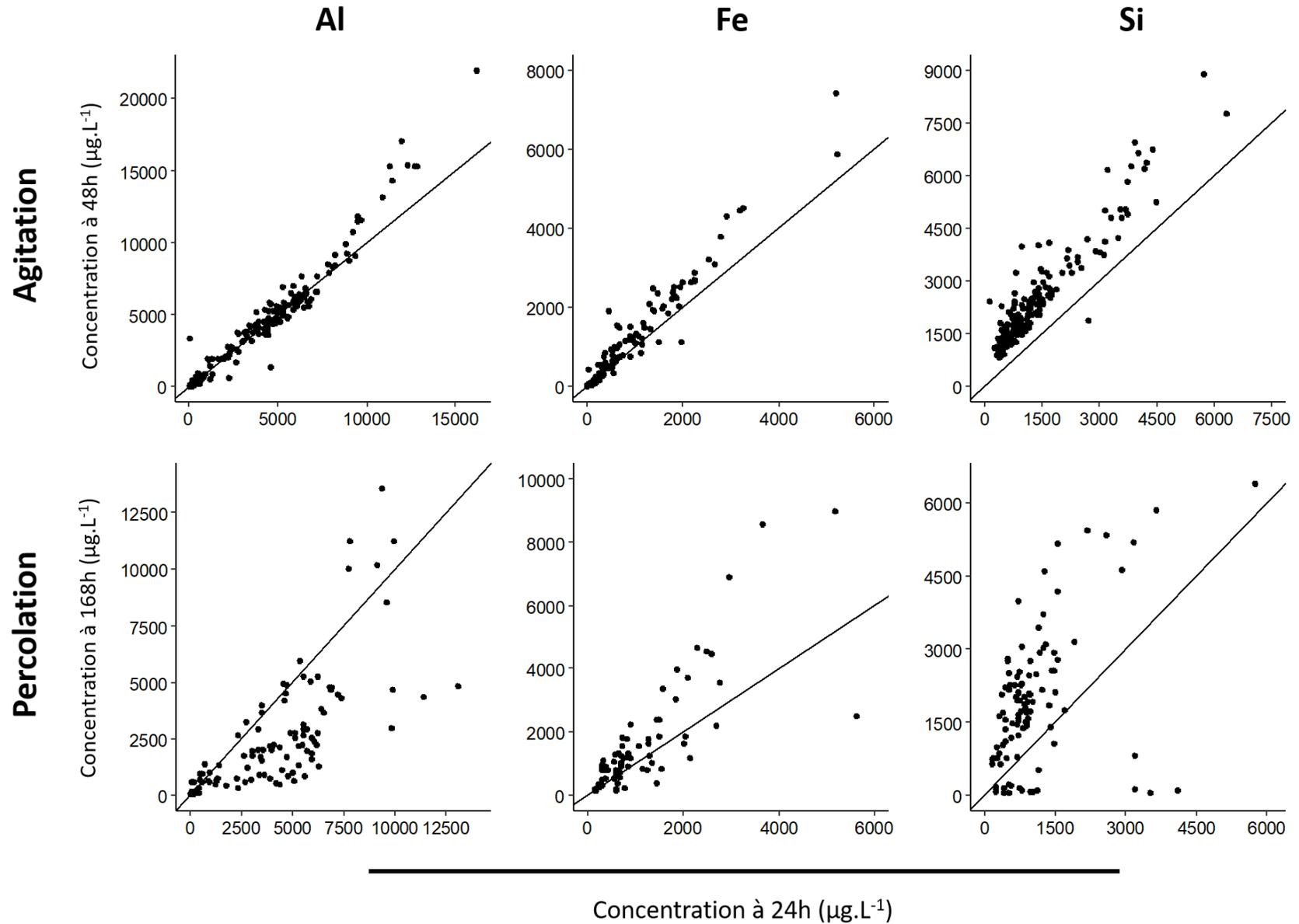


Figure III-5. Evolution des concentrations élémentaires de Al, Fe et Si en solution entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et le dernier pas de temps de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation). Les droites pleines représentent $y:x = 1$.



3.3. Comparaison des pools élémentaires extraits

3.3.1. Pools extraits dans les extractions à l'acétate d'ammonium (NH₄)

Les pools de Ca, Mg et K dans les extractions NH₄⁺ sont en médiane supérieurs en percolation (**Fig III-6**). Les ratios des quantités extraites en agitation sur les quantités extraites en percolation varient de 0.02 à 135 (médiane : 0.76, interquartile : 0.41) pour le Ca, de 0.02 à 109 (médiane : 0.79, interquartile : 0.42) pour le Mg et de 0.08 à 14 (médiane : 0.93, interquartile : 0.22) pour le K. Les différences sont significatives pour les 3 éléments (p-value < 0.001 pour le Ca et Mg et p-value < 0.01 pour le K) d'après les tests de comparaisons (Wilcoxon-Mann-Whitney apparié). Les pools cumulés en solution et dans les extractions NH₄#1 et NH₄#2 de Mg et K (Exch_Exp_{Mg} et Exch_Exp_K) sont significativement supérieurs en agitation (p-value < 0.001) tandis que pour le Ca, les pools Exch_Exp_{Ca} sont similaires entre les dispositifs (p-value 0.19) (**Tabl III-1**).

Ratio pools NH ₄ _{agitation} :NH ₄ _{percolation}	min	1st Qu.	median	3rd Qu.	max	Wilcoxon test p-value
Ca	0.02	0.58	0.76	0.99	135	< 0.001
Mg	0.02	0.57	0.79	1.00	109	< 0.001
K	0.08	0.84	0.93	1.06	14	< 0.01
Ratio pools Solution_NH ₄ _{agitation} :Solution_NH ₄ _{percolation}						
Ca	0.03	0.90	1.02	1.15	74	0.19
Mg	0.06	1.01	1.12	1.47	115	< 0.001
K	0.13	1.08	1.15	1.29	13	< 0.001
Ratio pools HNO ₃ _{agitation} :HNO ₃ _{percolation}						
Ca	0.01	0.88	1.10	1.30	4.18	0.08
Mg	0.12	0.86	1.22	1.66	2.85	< 0.05
K	0.16	0.86	1.29	1.64	2.74	< 0.001

Tableau III-1. Statistique de base des différences relatives entre les deux dispositifs des pools de Ca, Mg et K extraits i) dans les extractions à l'acétate (NH₄), ii) dans les extractions à l'acide nitrique (HNO₃) et iii) cumulés dans la solution et les extractions à l'acétate (Solution_NH₄). Les p-value des tests de comparaison de Wilcoxon-Mann-Whitney (échantillons appariés) sont données dans la dernière colonne.

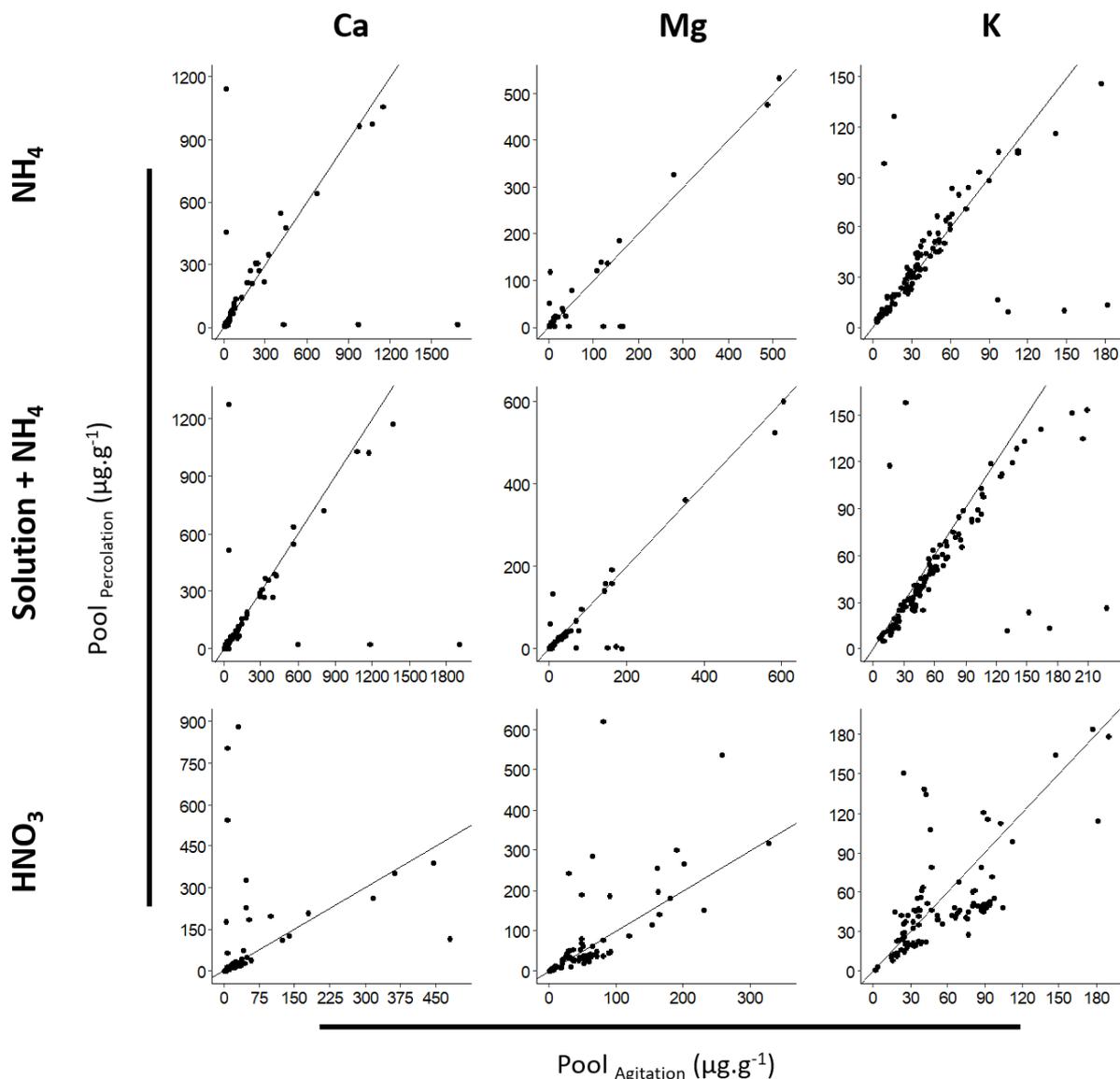


Figure III-6. Comparaison des quantités de Ca, Mg et K extraites i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) cumulés dans les extractions à l'acétate et en solution (solution + NH_4) et iii) extraites dans l'extraction à l'acide nitrique (HNO_3). Les droites pleines représentent $y:x = 1$.

Les pools d'Al et Fe dans les extractions NH_4 #1 et NH_4 #2 sont similaires entre les dispositifs pour les deux éléments (**Fig III-7**). Les différences relatives (ratio agitation sur percolation) sont moins variables pour le Fe que pour l'Al. Les ratios varient de 0.22 à 3.21 (médiane : 0.97, interquartile : 0.32) pour l'Al et de 0.20 à 3.72 (médiane : 0.99, interquartile : 0.14) pour le Fe (**Tabl III-2**). Lorsque les pools extraits dans les extractions NH_4^+ sont cumulés aux pools extraits par la solution de traçage, les tendances changent. Les pools cumulés sont supérieurs en agitation pour l'Al : les différences relatives varient de 0.12 à 5.96 (médiane : 1.38). Les

différences relatives sont significatives (p -value < 0.001) bien que le critère d'homoscédasticité ne soit pas respecté pour l'Al. Pour le Fe, à l'inverse, les quantités cumulées sont significativement supérieures en percolation (p -value < 0.001). Les différences relatives varient de 0.15 à 4.15 (médiane : 0.76).

3.3.2. Pools extraits dans les extractions à l'acide nitrique (HNO_3)

Les pools de Ca, Mg et K dans les extractions nitriques (HNO_3) sont en médiane plus importants en agitation (**Fig III-6 ; Tabl III-1**). Les différences relatives sont plus variables pour le K et Mg comparativement au Ca et varient de 0.01 à 4.18 (médiane : 1.10, interquartile : 0.41) pour le Ca, de 0.12 à 2.85 (médiane : 1.22, interquartile : 0.79) pour le Mg et de 0.16 à 2.74 (médiane : 1.29, interquartile : 0.78) pour le K. Les différences sont significatives pour le Mg et le K (p -value < 0.05 pour le Mg et p -value < 0.001 pour le K). Pour le Ca, les différences ne sont pas significatives (p -value 0.08).

Les pools d'Al, Fe et Si dans les extractions nitriques sont également en médiane plus importants en agitation (**Fig III-7**). Les différences sont plus marquées pour le Fe et Si et les différences relatives sont globalement moins variables que pour les Ca, Mg et K. Les différences relatives varient de 0.41 à 6.93 (médiane : 1.12, interquartile : 0.30) pour l'Al, de 0.32 à 6.57 (médiane : 1.16, interquartile : 0.24) pour le Fe et de 0.47-2.22 (médiane : 1.17, interquartile : 0.40) pour le Si (**Tabl III-2**). Les différences sont significatives pour les trois éléments (p -value < 0.001).

Ratio pools NH ₄ _{agitation} :NH ₄ _{percolation}	min	1st Qu.	median	3rd Qu.	max	Wilcoxon test p-value
Al	0.22	0.85	0.97	1.17	3.21	0.25
Fe	0.20	0.89	0.99	1.03	3.72	0.21
Si	0.06	0.99	1.00	1.30	7.17	0.13
Ratio pools Solution_NH ₄ _{agitation} :Solution_NH ₄ _{percolation}	min	1st Qu.	median	3rd Qu.	max	Wilcoxon test p-value
Al	0.12	1.20	1.38	1.68	5.96	< 0.001*
Fe	0.15	0.54	0.76	0.97	4.15	< 0.001
Si	0.33	0.95	1.32	1.69	4.89	< 0.001
Ratio pools HNO ₃ _{agitation} :HNO ₃ _{percolation}	min	1st Qu.	median	3rd Qu.	max	Wilcoxon test p-value
Al	0.41	0.98	1.12	1.27	6.93	< 0.001
Fe	0.32	1.03	1.16	1.26	6.57	< 0.001
Si	0.47	0.96	1.17	1.36	2.22	< 0.001

Tableau III-2. Statistique de base des différences relatives entre les deux dispositifs des pools de Al, Fe et Si extraits i) dans les extractions à l'acétate (NH₄), ii) dans les extractions à l'acide nitrique (HNO₃) et iii) cumulés dans la solution et les extractions à l'acétate (Solution_NH₄). Les p-value des tests de comparaison de Wilcoxon-Mann-Whitney (échantillons appariés) sont données dans la dernière colonne.

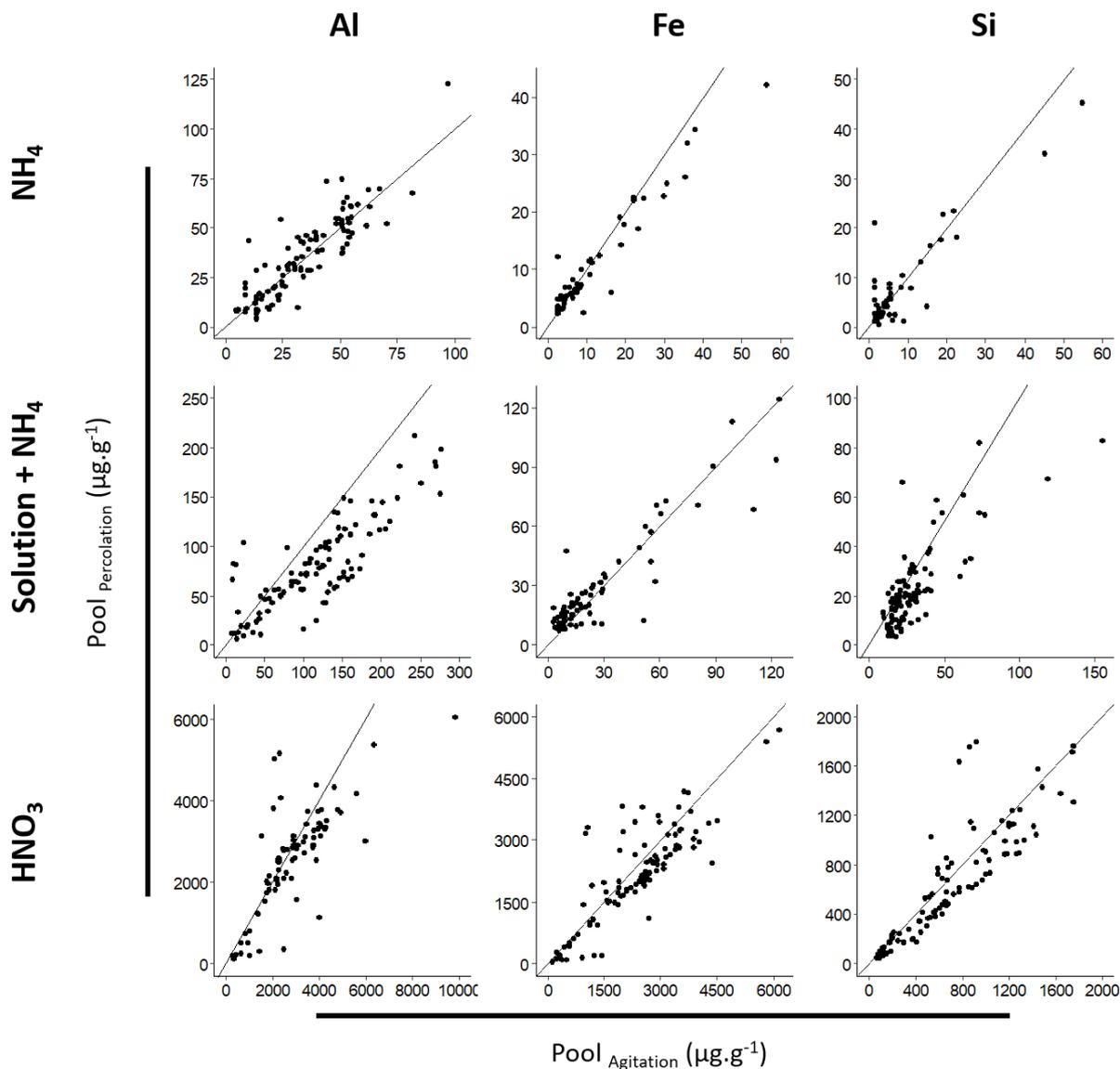


Figure III-7. Comparaison des quantités de Al, Fe et Si extraites i) dans les extractions à l'acétate (NH_4), ii) cumulés dans les extractions à l'acétate et en solution (solution + NH_4) et iii) extraites dans l'extraction à l'acide nitrique (HNO_3). Les droites pleines représentent $y:x = 1$.

3.4. Comparaison des distributions de traceurs dans les différents compartiments (Solution, NH_4 et HNO_3)

Les distributions relatives des traceurs de Ca, Mg et K (quantité de traceur retrouvée dans chaque compartiment rapportée à la quantité totale de traceur retrouvée dans le système solution + sol) montrent que les traceurs se distribuent globalement de manière similaire entre les

compartiments pour les deux dispositifs : solution > NH_4 > HNO_3 pour le Ca, Mg et K (**Fig III-8**). Toutefois, les distributions relatives varient entre les dispositifs pour chaque compartiment.

Les quantités relatives de traceur retrouvées en solution sont plus faibles pour le système en percolation comparé au système en agitation pour le Ca et Mg : les distributions médianes pour les dispositifs en agitation et en percolation sont respectivement de 72% et 62% pour le Ca, et de 97% et 89% pour le Mg. Pour le K, les distributions relatives sont globalement similaires bien que la distribution médiane soit supérieure en percolation (54% et 58% respectivement pour l'agitation et la percolation).

La tendance observée en solution s'inverse dans les extractions NH_4^+ pour les trois éléments. Les distributions de traceur sont plus importantes en percolation pour le Ca et Mg : les médianes des distributions sont en agitation et percolation de 20% et 30% pour le Ca, et de 1% et 11% pour le Mg. Pour le K, les distributions de traceur sont également similaires sur l'ensemble du jeu de données ; la médiane est néanmoins plus importante en agitation qu'en percolation (41% et 38% respectivement pour l'agitation et la percolation).

Les distributions de traceurs de Ca dans le compartiment HNO_3 suivent en médiane la même tendance que pour les pools $\text{NH}_4\#1$ et $\text{NH}_4\#2$, bien que sur l'ensemble du jeu de données, les distributions relatives sont similaires. Les distributions médianes sont de 5% et 7% respectivement en agitation et en percolation. Pour le Mg, sur l'ensemble du jeu de données, peu d'échantillons ont eu des quantités de traceur analytiquement quantifiable dans le compartiment HNO_3 (les médianes des distributions relatives sont nulles pour les deux dispositifs). Pour le K, les quantités relatives de traceur retrouvées dans l'extraction HNO_3 sont similaires entre les dispositifs et en médiane de 3.6% et 3.4% respectivement pour le système en agitation et en percolation.

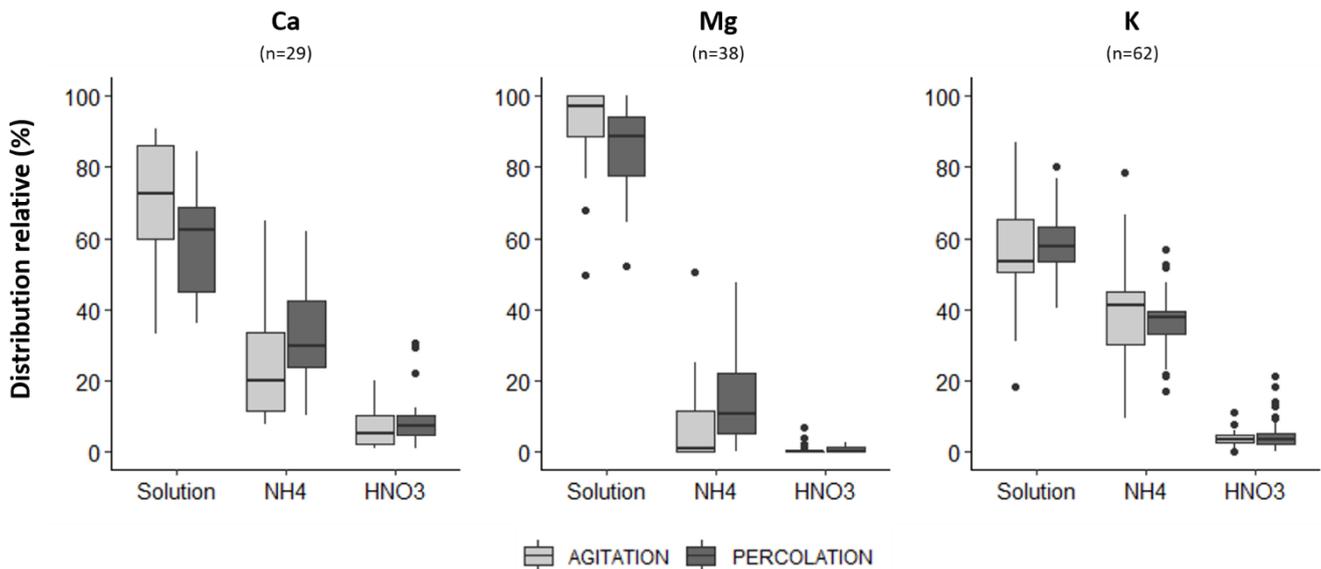


Figure III-8. Boxplot des distributions relatives de traceur trouvé dans chaque compartiment extrait rapporté à la quantité totale de traceur trouvé dans le système (solution et sol). Le nombre d'échantillons (n) est donné entre parenthèses.

3.5. Estimation des pools isotopiquement échangeables par modélisation

L'approche par régression linéaires a permis d'établir deux types de modèle prédictif des pools isotopiquement échangeables E_x construits à partir 1) des propriétés physico-chimiques conventionnelles des échantillons de sol et 2) des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique (mais ne nécessitant pas la mesure de rapport isotopique).

3.5.1. Modèles prédictifs à partir des données conventionnelles

Le modèle prédictif des pools E_{Ca} est construit à partir des variables prédictives de pool échangeable conventionnel de Ca (Ca.Exch), du taux de saturation en calcium échangeable (Ca.Sat) et de la teneur en argile (Clay) (**Fig III-9**). Le modèle prédictif des pools E_{Mg} est construit à partir des variables prédictives de pools échangeables conventionnels de Ca et Mg (Ca.Exch et Mg.Exch), de la somme des bases échangeables (BC), de la capacité d'échange cationique effective (ECEC) et de teneur en argile (Clay) (**Fig III-10**). Le modèle prédictif des pools E_K est construit à partir des variables prédictives de pool échangeable conventionnel de K, Al et Mg (K.Exch, Al.Exch et Mg.Exch), de la somme des bases cationiques (BC) et du taux de saturation en Mg échangeable (Mg.Sat) (**Fig III-11**).

Pour ces modèles, les coefficients de détermination sont respectivement de 0.94, 0.95 et 0.98 pour le Ca, Mg et K (p-value < 0.001). Les erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont respectivement de 62.64 et 119.86 pour le Ca, de 16.01 et 27.53 pour le Mg et de 9.59 et 12.45 pour le K.

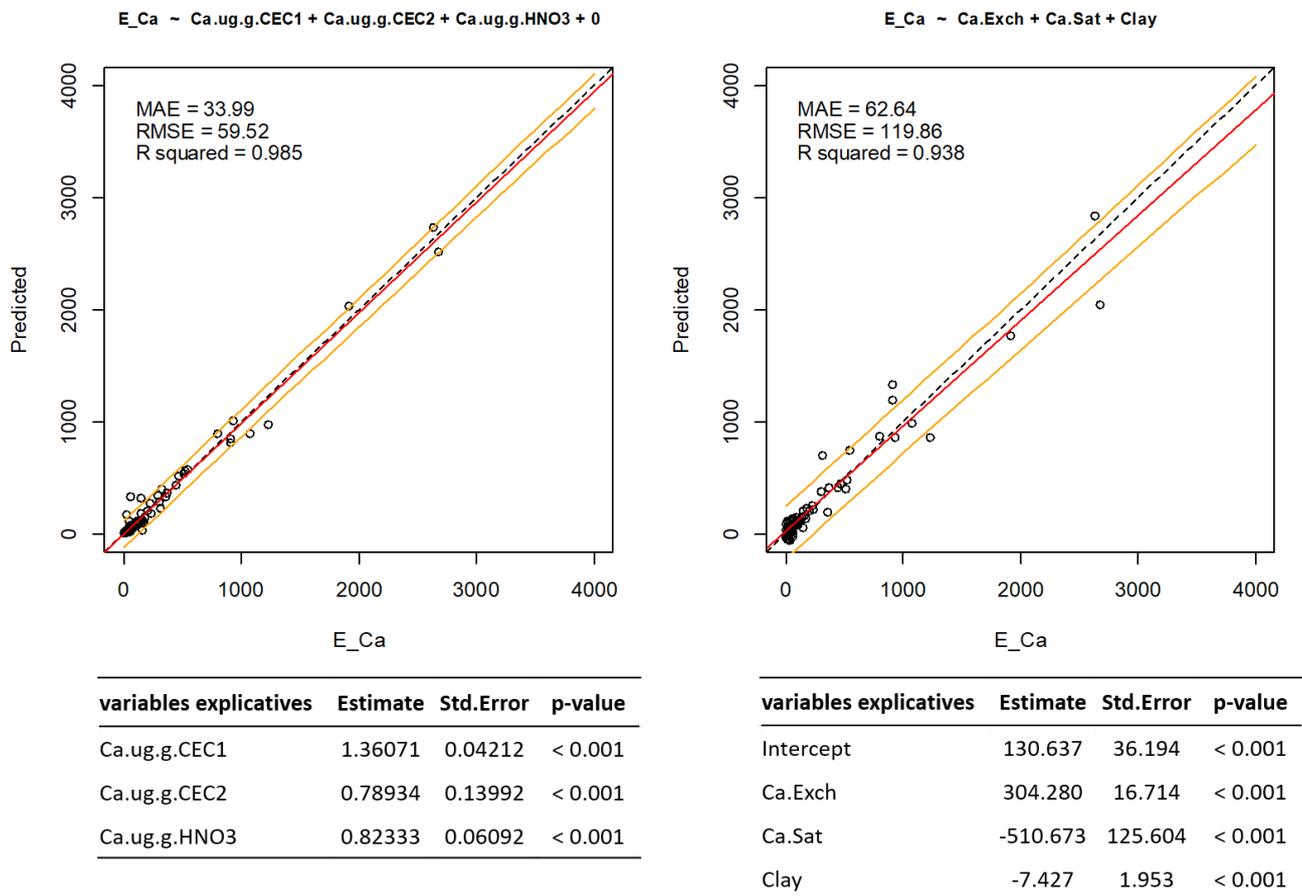


Figure III-9. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Ca (E_{Ca}) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.

3.5.2. Modèles prédictifs à partir des données expérimentales

Le modèle prédictif des pools E_{Ca} est construit à partir des variables prédictives des quantités de Ca extraites dans chaque extraction de sol (Ca.ug.g.CEC1, Ca.ug.g.CEC2, Ca.ug.g.HNO3) (**Fig III-9**). Le modèle prédictif des pools E_{Mg} est construit à partir des variables prédictives des quantités de Mg extraites en solution (Mg.ug.g.S) et dans chaque extraction de sol

(Mg.ug.g.CEC1, Mg.ug.g.CEC2 et Mg.ug.g.HNO3) (**Fig III-10**). Le modèle prédictif des pools E_K est construit à partir des variables prédictives des quantités de K extraites en solution (K.ug.g.S) et dans deux extractions d'acétate d'ammonium (K.ug.g.CEC1 et K.ug.g.CEC2) (**Fig III-11**).

Pour ces modèles, les coefficients de détermination sont de 0.98 pour le Ca et Mg (p-value < 0.001) et de 0.96 pour le K (p-value < 0.001). Les erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont plus faible que pour les modèles construits à partir des données conventionnelles et sont respectivement de 33.99 et 59.52 pour le Ca, de 6.91 et 15.36 pour le Mg et de 7.46 et 8.89 pour le K.

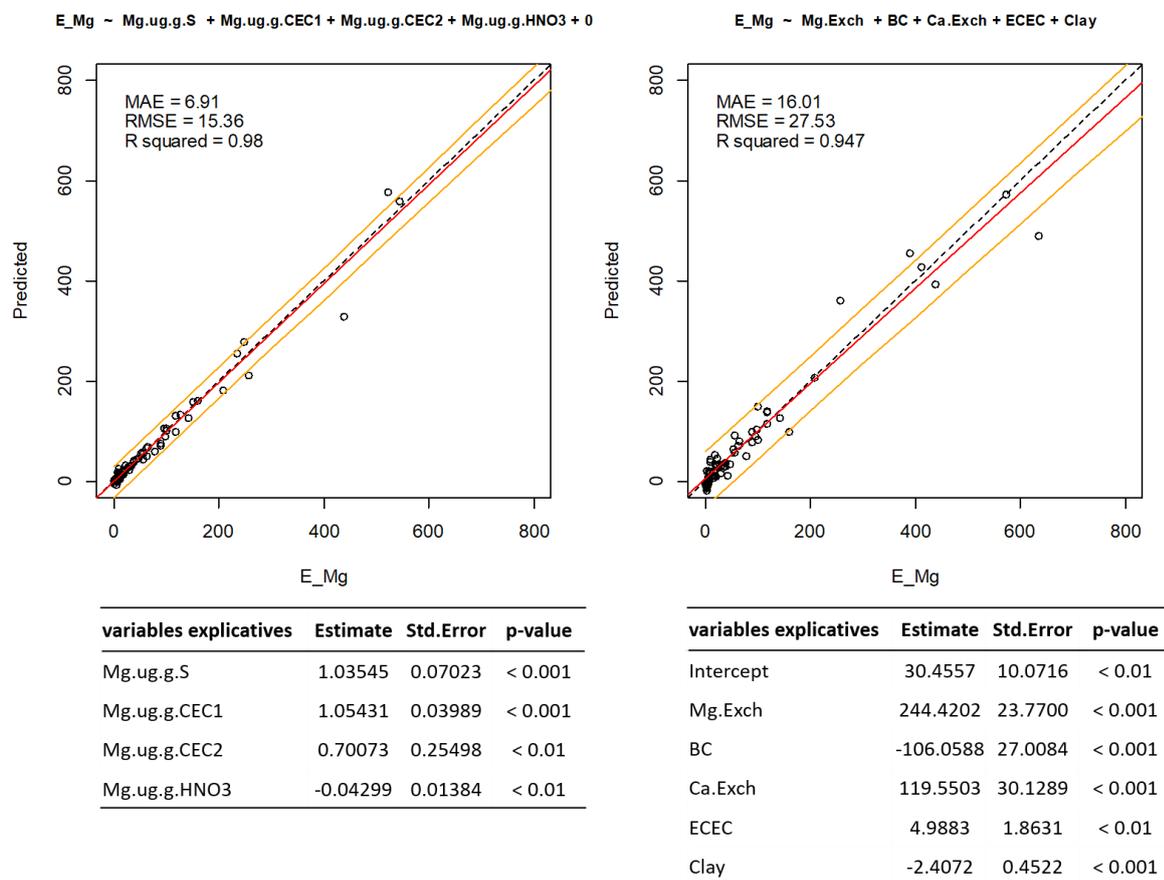


Figure III-10. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Mg (E_{Mg}) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.

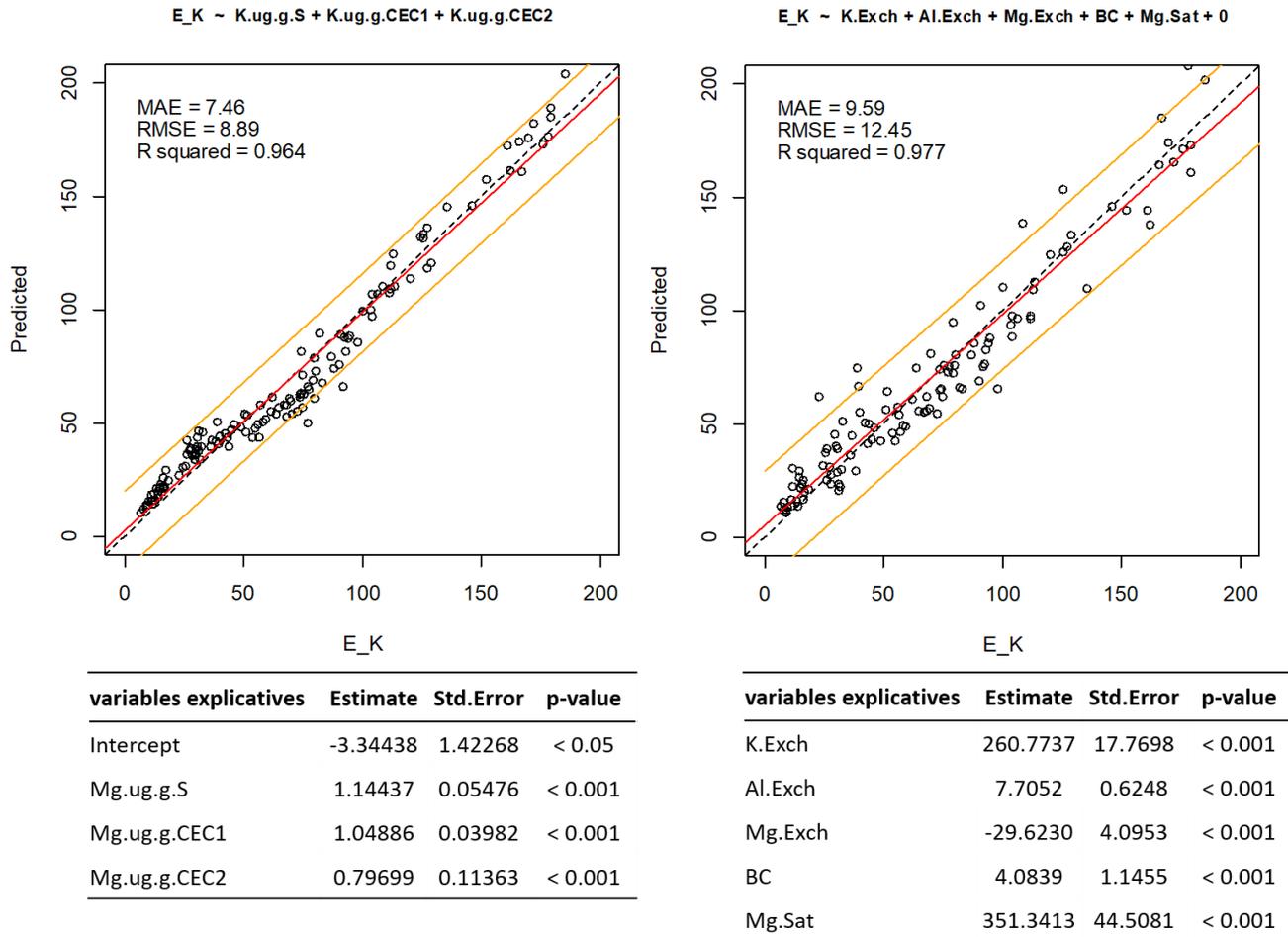


Figure III-11. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de K (E_K) construits à partir i) des données expérimentales de dilution isotopique et ii) des données d'analyses de sol conventionnels. Les estimations de chaque variable explicative sont données dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.

4. Discussion

4.1. Comparaison des approches expérimentales dédiées à la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K.

L'approche par dilution isotopique a pour objectif de quantifier le pool d'un élément dans le sol qui joue à la fois le rôle de source et de puits (support de la biodisponibilité à court terme). Nos résultats montrent que la quantification des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K varie significativement selon la méthode choisie, en termes d'équilibre élémentaire mais aussi isotopique entre la solution de traçage et l'échantillon de sol. Les pools E_{Ca} , E_{Mg} et E_K mesurés par l'approche par agitation étaient significativement supérieurs à ceux mesurés par l'approche par percolation. Par ailleurs, l'écart relatif médian entre les deux approches était relativement grand pour le Ca (>30%) et le K (~60%).

La dilution isotopique qui se produit au cours de l'équilibration entre la solution isotopiquement enrichie et le sol peut être affectée par différents facteurs et/ou processus et un mélange isotopique entre la solution et des sources autres que ce pool source/puits peut aussi se produire. Plusieurs hypothèses peuvent donc être émises pour expliquer pourquoi les pools E_x en agitation étaient plus grands que les pools E_x en percolation :

- Hypothèse 1 : l'équilibre isotopique n'est pas atteint en percolation, contrairement à l'agitation.
- Hypothèse 2 : l'équilibre élémentaire n'est pas atteint en percolation, contrairement à l'agitation.
- Hypothèse 3 : une dilution avec une source autre que le pool source/puits existe en agitation.
- Hypothèse 4 : le nombre de sites sources/puits accessibles est plus important en agitation qu'en percolation.

4.1.1. Hypothèse 1: l'équilibre isotopique n'est pas atteint en percolation

Il est possible que l'équilibre isotopique entre la solution de traçage et l'échantillon de sol n'ait pas été atteint au bout de 168h de percolation, causant ainsi une sous-estimation du pool isotopiquement échangeable. En effet, la vitesse de renouvellement de la solution de traçage à l'interface solide/liquide est plus faible dans un système en percolation où elle est limitée par

la vitesse de percolation de la solution de traçage et par les processus de diffusion des solutés au sein de micro-agrégats dans la colonne de sol.

Cette hypothèse peut être rejetée puisque les résultats montrent que l'équilibre isotopique a été atteint pour les trois cations Ca, Mg et K au bout de 48h pour l'approche en agitation et 168h pour l'approche en percolation. Comme le montre la **figure III-3**, les pools isotopiquement échangeables n'évoluent pas ou très peu entre le dernier et l'avant dernier pas de temps.

4.1.2. Hypothèse 2: l'équilibre élémentaire n'est pas atteint en percolation

Il est possible que l'équilibre élémentaire entre la solution de traçage et l'échantillon de sol n'ait pas été atteint au bout de 168h de percolation, causant ainsi une sous-estimation du pool isotopiquement échangeable.

Nos résultats suggèrent que l'équilibre élémentaire semble être atteint au dernier pas de temps pour le Ca, Mg et K en ce qui concerne l'approche par agitation (**Fig III-4**). Par contre, pour l'approche en percolation, malgré l'équilibre isotopique, les concentrations élémentaires de Ca, Mg, K et Al diminuent fortement pour une proportion non négligeable d'échantillons entre l'avant-dernier et le dernier pas de temps. Cette diminution simultanée de la concentration de plusieurs cations est vraisemblablement expliquée par un flux net d'adsorption des cations par la phase solide, en l'occurrence sur le complexe d'échange cationique du sol. En effet, les quantités de Ca, Mg et K extraites du pool échangeable (extraction $\text{NH}_4\#1 + \text{NH}_4\#2$) sont significativement supérieures en percolation (p-value < 0.001 pour le Ca et Mg et p-value < 0.01 pour le K) comparées à l'approche par agitation. En termes de flux, cette augmentation du Ca, Mg et K extraits du pool échangeable est équivalente à la diminution des concentrations en solution (**Fig III-4** et **Fig III-6**). Comparativement, la diminution des concentrations en Al en solution entre l'avant dernier et le dernier pas de temps observée pour le système en percolation (**Fig III-8**) ne semble pas s'être accompagnée d'un flux d'adsorption sur le complexe d'échange. Si tel avait été le cas, il serait attendu que les quantités d'Al extraites du pool échangeable (extractions $\text{NH}_4\#1$ et $\text{NH}_4\#2$) soient aussi supérieures dans le système en percolation. Or, les résultats montrent que les pools échangeables d'Al sont similaires entre les dispositifs (p-value 0.25) et suggèrent qu'une part de l'aluminium a vraisemblablement précipité. Comme la solubilité de l'aluminium dépend fortement du pH de la solution, il est

possible que le pH ait augmenté au cours du temps lors de la percolation de la colonne de sol. Une augmentation du pH de la solution pourrait aussi expliquer le flux net d'adsorption de Ca, Mg et K sur le complexe d'échange cationique i) soit par une augmentation de la capacité d'échange cationique avec une contribution plus forte des charges variables, ii) soit, à capacité d'échange cationique égale, par une diminution de l'acidité d'échange au profit du Ca, Mg et K. Nos résultats montrent que la capacité d'échange cationique effective (ECEC) estimée (somme des teneurs échangeables de Ca, Mg, K, Na, Al, Fe, et Mn) est significativement supérieure pour les sols du système en percolation (p -value < 0.001) (**Fig III-12**) et pourrait suggérer une augmentation de la capacité d'échange cationique. Toutefois, aucune différence significative d'aluminium échangeable ($\text{NH}_4\#1 + \text{NH}_4\#2$) n'a été observée entre les deux approches. Comme les teneurs en proton échangeables (H^+) se comportent (généralement) de manière similaire aux teneurs d'Al échangeables suivant le pH du système et que ces dernières n'augmentent pas sur le complexe d'échange, cela appuierait l'hypothèse d'une resaturation de la capacité d'échange cationique en bases échangeables durant l'expérience pour le dispositif en percolation. Cette resaturation du complexe d'échange associée au flux d'adsorption net a pu perturber l'équilibre élémentaire et la mesure des pools isotopiquement échangeables. Selon le principe de dilution isotopique, il est possible qu'un flux net d'adsorption de Ca, Mg et K élémentaire et isotopique de la solution vers la phase solide puisse causer un biais dans la quantification des pools isotopiquement échangeables si ce flux réduit les échanges cationiques entre les phases solide et liquide. Cependant, dans cette étude, cela ne semble pas avoir eu d'incidence sur l'équilibre isotopique et la quantification des pools isotopiquement échangeables comme discuté dans la première hypothèse.

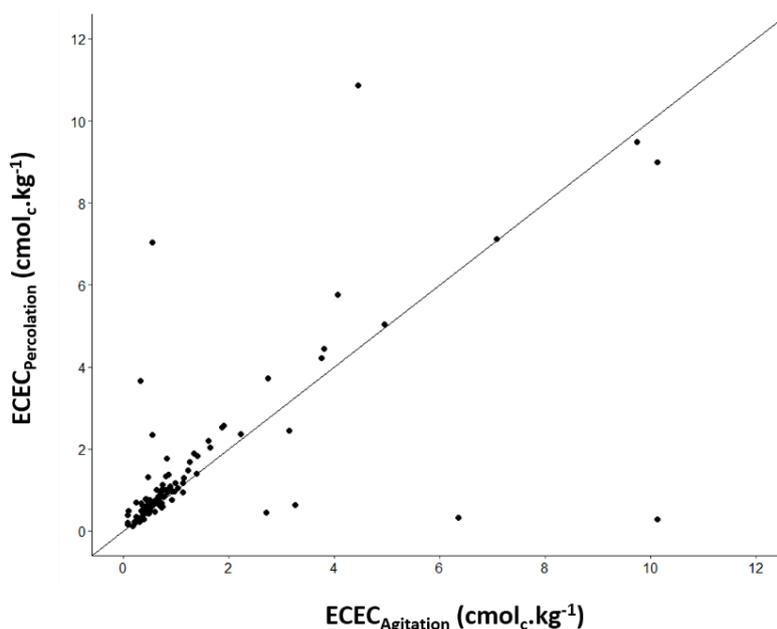


Figure III-12. Comparaison entre dispositifs des capacités d'échanges cationiques effectives estimées (ECEC). Les ECEC sont calculées en sommant les quantités de Ca, Mg, K, Na, Al, Fe, et Mn extraits dans les extractions $\text{NH}_4\#1$ et $\text{NH}_4\#2$. La droite pleine représente $y:x = 1$.

4.1.3. Hypothèse 3: dilution avec une source autre que le pool source/puits en agitation

Il est possible que la plus forte dilution isotopique observée dans l'approche par agitation soit due à un flux de Ca, Mg et K provenant de sources qui n'étaient pas initialement isotopiquement échangeables (e.g. l'altération de minéraux primaires ou secondaires contenant du Ca, Mg et/ou K ou la minéralisation de composés organiques). Les cations nutritifs Ca, Mg et K sont stockés dans des réservoirs autres que le pool source/puits (e.g. immobilisés dans la structure des minéraux primaires et secondaires, matière organique). En fonction du dispositif et des paramètres expérimentaux, ces sources de Ca, Mg et K pourraient être mobilisées par altération ou minéralisation et induire une dilution supplémentaire des traceurs isotopiques, conduisant à une surestimation du pool source/puits. La dilution isotopique est en effet une méthode très sensible permettant de quantifier des flux d'entrée d'élément, même petits, dans un système (van der Heijden et al. 2017).

Les résultats d'un précédent essai de dilution isotopique conduit sur un sol du site de Breuil-Chenue, ont montré qu'une altération des phases minérales du sol avec une libération de cations nutritifs s'est produit dans les réacteurs après 48h d'agitation (van der Heijden et al. 2018), conduisant à une très nette augmentation des pools E_{Ca} et E_{Mg} . Dans cette même étude, un système en percolation avait été testé pour lequel aucun signe de flux d'altération n'avait été observé. Il a été suggéré que cette différence de comportement pourrait être due au fait que le sol est envoyé dans la solution de traçage pour le dispositif en agitation. Dans le cadre de notre étude, la durée de l'expérience était relativement courte (48h pour le système en agitation et 7 jours pour le système en percolation) mais l'occurrence de processus d'altération et/ou de minéralisation de matières organiques reste néanmoins possible au regard des conditions expérimentales. Par exemple, les processus d'équilibre peuvent mener à une acidification de la solution en contact avec le sol (e.g. désorption d'anions) ou à une libération d'acides organiques dissous. La température (20°C) et le contact avec l'atmosphère peuvent aussi favoriser la minéralisation de matières organiques.

L'hypothèse formulée peut néanmoins être rejetée à la lumière de nos résultats. Dans l'expérience de dilution isotopique de cette étude, pour les systèmes en agitation, les concentrations élémentaires de Ca, Mg, K et Al et les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K étaient stables entre 24h et 48h (**Fig III-3, III-4 et III-5**). Cet équilibre élémentaire

et isotopique démontre qu'aucun flux d'entrée de Ca, Mg ou K ne s'est produit entre ces deux pas de temps. Pour le dispositif en percolation, malgré l'évolution des concentrations élémentaires, l'équilibre isotopique était atteint entre l'avant dernier et le dernier pas de temps. Ces résultats montrent qu'aucun flux d'entrée de Ca, Mg ou K ne s'est produit entre ces pas de temps. On peut aussi écarter l'hypothèse d'un flux d'entrée de Ca, Mg ou K se produisant uniquement durant les premiers pas de temps du système en agitation (jusqu'à 24h).

4.1.4. Hypothèse 4: le nombre de site sources/puits accessibles est plus important en agitation qu'en percolation

Il est possible que la solution de traçage isotopique se soit équilibrée avec un pool source/puits de Ca, Mg et K plus grand dans le système en agitation en comparaison du système en percolation si un certain nombre de sites d'échanges isotopiques était moins ou non accessible dans l'approche par percolation. Il est par exemple possible que la solution de traçage ait percolé le sol par des chemins préférentiels de percolation, limitant ainsi le volume de sol en équilibre avec la solution. Il est aussi possible que sous l'action abrasif de l'agitation (destruction des micro agrégats de sol pouvant existaient dans les sols tamisés) des sites d'échange isotopique aient été rendus accessible : ces sites pourraient être des sites d'échanges cationiques (extractibles à l'acétate d'ammonium) mais aussi des sites d'adsorption dans les phases minérales secondaires amorphes et/ou mal-cristallisées (non-extractibles à l'acétate d'ammonium) (Bel et al. 2020). Enfin, il est aussi possible que des phases minérales secondaires aient été déstabilisées au cours de la phase d'équilibre isotopique dans le système en agitation (sol ennoyé) créant ainsi des sites d'échange isotopique ou rendant accessible des sites existant mais occlus dans les phases amorphes.

Bien que ces hypothèses soient vraisemblables, un certain nombre d'arguments peuvent être avancés qui suggèrent que les différences de pools isotopiquement échangeables entre les systèmes en agitation et percolation sont expliquées par des différences de pools isotopiquement échangeables non-extractibles à l'acétate d'ammonium.

- Il a aussi été observé que les pools d'Al, Fe et Si extraits avec l'acide nitrique étaient significativement supérieurs dans le système en agitation (p -value < 0.001 pour les trois éléments) (**Tabl III-2 ; Fig III-7**) et les pools d'Al et Fe extraits avec l'acétate d'ammonium

étaient similaires pour les deux approches expérimentales. Des résultats identiques ont été observés pour le Mg et K (p-value < 0.05 et p-value < 0.001 pour le Mg et K respectivement) (**Tabl III-1 ; Fig III-6**) bien que les pools extraits à l'acétate d'ammonium étaient significativement supérieurs en percolation (en raison du flux d'adsorption précédemment discuté). Ces observations suggèrent que des phases minérales secondaires non-cristallines contenant ces éléments ont été altérées/déstabilisées au cours de la phase d'équilibre dans le système en agitation. Ces phases altérées/déstabilisées auraient été rendues plus labiles à une extraction avec un acide fort. Dans les deux systèmes, le suivi des concentrations en Fe et Si au cours du temps lors de la phase d'équilibre isotopique suggère que l'équilibre élémentaire pour ces éléments n'a pas été atteint pour les deux approches expérimentales. Cette augmentation continue des concentrations en Fe et Si suggère aussi une altération de phases minérales secondaires mal cristallisés. Une étude précédente avait souligné que ces phases minérales étaient plus sensibles aux processus d'altération dans un système en agitation comparé à un système en percolation (van der Heijden et al. 2018).

- Dans une étude précédente (Bel et al. 2020) il a été montré que la contribution des pools autres qu'échangeable au pool isotopiquement échangeable était plus faible pour le Mg comparativement au Ca et K (les pools E_{Mg} étaient en général plus proche du pool $Exch_Conv_{Mg}$). Le Mg est aussi l'élément pour lequel les différences de pools E_{Mg} entre les deux approches expérimentales sont les plus faibles.

Comme discuté précédemment, il est aussi possible qu'un plus grand nombre de sites d'échange cationique (extractible à l'acétate d'ammonium) ait contribué à la différence de pool isotopiquement échangeable observé entre les deux approches. Si tel était le cas, on pourrait s'attendre à retrouver une quantité de traceur plus importante dans les pools NH_4 dans le système en agitation. Il n'est cependant pas possible de conclure puisque le flux net d'adsorption de Ca, Mg et K observée dans l'approche en percolation rend difficile la comparaison des bilans de traceurs dans les pools du sol entre les deux approches. Nos résultats ne permettent donc pas de i) valider ou réfuter l'hypothèse d'un pool source/puits de Ca, Mg et K plus grand dans le système en agitation (puisque les traceurs isotopiques de la solution s'équilibreraient isotopiquement avec un pool du sol plus grand, on pourrait s'attendre à retrouver une plus grande quantité de traceur de Ca, Mg et K dans l'ensemble des phases du sol dans le système en agitation), ni de ii) conclure sur l'importance relative des pools

isotopiquement échangeable extractibles et non extractibles à l'acétate d'ammonium dans cette différence entre les deux approches.

4.2. Recommandation expérimentale

Les deux approches expérimentales appliquées dans le cadre de cette étude pour quantifier les pools isotopiquement échangeables ont généré des résultats différents. La confrontation de ces résultats ne permet malheureusement pas de conclure de manière définitive sur l'impact d'éventuels biais induits par l'approche expérimentale en agitation ou en percolation. Cependant, ces résultats permettent de discuter des avantages et des limites de chacune de ces deux méthodes et de l'applicabilité de ces deux approches pour quantifier à grande échelle les pools isotopiquement échangeable.

L'approche expérimentale d'équilibre isotopique par percolation d'une colonne de sol avec la solution de traçage se rapprocherait plus des conditions *in situ* d'équilibre entre la phase solide et liquide en respectant un ratio (volume de solution):(masse de sol) proche de la capacité au champ des échantillons de sol, comparée à l'approche par agitation pour laquelle le sol est noyé dans un grand volume d'eau. Pour cette même raison, les résultats d'un précédent essai de dilution isotopique conduit sur un sol du site de Breuil-Chenue (van der Heijden et al. 2018) avaient amené à préconiser l'approche par percolation pour mesurer les pools E_{Ca} et E_{Mg} . De plus cette même étude avait montré qu'une altération minérale et/ou une déstabilisation de phases organiques dans l'échantillon de sol s'étaient produites au cours de la phase d'équilibre dans un système en agitation (pour des temps de contact longs : > 48h) alors que dans le système en percolation l'équilibre élémentaire était plus stable.

La présente étude montre des résultats plus contrastés. Nos résultats montrent tout d'abord que l'équilibre élémentaire était plus stable dans le système en agitation en comparaison du système en percolation, pour la majorité des échantillons. Par ailleurs, nos résultats montrent qu'un flux d'adsorption de cations s'est produit en cours d'expérimentation dans le système en percolation, et ce pour un nombre significatif d'échantillons. Bien que ce flux d'adsorption ne semble pas avoir eu d'effet sur les équilibres isotopiques et la mesure des pools isotopiquement échangeables, ce processus a très probablement eu un effet sur la quantité de traceur retrouvé

dans les compartiments du sol et donc sur l'estimation de la contribution relative de ces compartiments au pool isotopiquement échangeable du sol. Pour l'approche en agitation, même si l'équilibre élémentaire était en général plus stable, nos résultats suggèrent que des minéraux secondaires amorphes et non-cristallins ont été déstabilisés pendant l'expérience, sans toutefois provoquer un flux d'altération minérale bien net ou influencer l'équilibre isotopique. Il n'est pas encore tout à fait clair si cette déstabilisation reflète un artefact expérimental ou des processus naturels : les phases secondaires amorphes pouvant être très dynamiques dans les sols (Collignon et al. 2012).

D'un point de vue technique, la mise en place et le suivi de la dilution isotopique dans le dispositif en percolation est plus compliqué comparé au système en agitation. Tout d'abord, pour un nombre significatif d'échantillons de sol (les sols à texture fine en particulier), des colmatages de la porosité dans la colonne de sol se sont produits en cours d'expérimentation, conduisant à un mauvais drainage et à une percolation ralentie de la solution de traçage. En plus de causer une certaine hétérogénéité entre les échantillons d'un point de vue de la cinétique d'équilibre isotopique, la solution de traçage s'est accumulée au-dessus de la colonne de sol pour un certain nombre d'échantillons au point de déborder hors du réacteur, invalidant ainsi l'utilisation des données issues de cet échantillon de sol. Une autre difficulté avec l'approche par percolation réside dans le transfert de l'échantillon de sol solide à la fin de la cinétique de dilution isotopique pour réaliser les extractions séquentielles. Pour un certain nombre d'échantillons de sol, notamment les sols très organiques, il n'a pas été possible de transférer 100% de l'échantillon de sol, empêchant ainsi la quantification de la contribution des différents compartiments du sol au pool isotopiquement échangeable. Par ailleurs, sur l'ensemble des échantillons mesurés dans cette étude avec ces deux approches, il a été constaté un plus grand nombre de contaminations pour le système en percolation en comparaison du système en agitation. Ces contaminations ont conduit à invalider respectivement pour le Ca, Mg et K, 51%, 46% et 38% des données en percolation contre 39%, 41% et 27% pour l'agitation.

L'approche par agitation semble donc être l'approche la plus adéquate pour la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. En plus de sa facilité de mise en œuvre (temps d'équilibre plus court), son moindre risque de contamination et sa capacité de réaliser simultanément un nombre d'échantillons de sol supérieur, les résultats de cette approche

semblent plus répétables (homogénéité des conditions expérimentales) mais les temps d'équilibre isotopique doivent être maintenus en dessous de 48h.

4.3. Méthode indirecte d'estimation des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K par une approche multivariée.

La dilution isotopique est reconnue comme une approche pertinente pour quantifier les pools d'éléments en équilibre avec la solution du sol. Cependant, le coût du matériel isotopique et la complexité de mise en œuvre de la méthode rend son utilisation à grande échelle en tant qu'analyse de sol de routine compliquée. Le jeu de données, issu des systèmes en agitation, acquis dans cette étude a permis d'investiguer différentes manières de modéliser les pools isotopiquement échangeables (approche indirecte) à partir de variables plus simples et moins onéreuses à obtenir : i) des données d'analyses de sol conventionnelles et ii) des données de teneurs élémentaires obtenues au cours de l'expérience de dilution isotopique (quantités élémentaires extraites en solution et dans les différentes extractions : $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3).

L'approche de régression linéaire multivariée a permis d'établir des modèles relativement robustes permettant de prédire les pools isotopiquement échangeables à partir des propriétés physico-chimiques conventionnelles des échantillons de sol. Pour ces modèles, les coefficients de détermination sont respectivement de 0.94, 0.95 et 0.98 pour Ca, Mg et K. Cependant, pour les trois éléments, les modèles les plus performants sont ceux construits à partir des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique. En effet, l'erreur moyenne, l'erreur absolue moyenne et la racine carrée de la moyenne des erreurs au carré sont plus proches de zéro pour ce deuxième type de modèles pour le Mg et K et dans une moindre mesure pour le Ca. Pour le Ca, l'erreur moyenne était légèrement supérieure comparée au modèle construits à partir des propriétés physico-chimiques conventionnelles.

Même si une grande part de la variabilité entre les échantillons est expliquée par les variables retenues dans les différents modèles, l'incertitude de prédiction reste élevée. Nos résultats suggèrent que ces approches indirectes d'estimation peuvent être envisagées pour avoir une première approximation du pool isotopiquement échangeable. Lorsque c'est possible, il est préférable d'utiliser les modèles construits à partir des variables mesurées au cours de

l'expérience de dilution isotopique. Ces variables peuvent être obtenues assez facilement en appliquant le protocole du système en agitation décrit dans cette étude, en utilisant non pas une solution de traçage isotopique, mais en construisant une solution à partir de Ca, Mg et K « élémentaire » non-enrichi aux mêmes concentrations, réduisant ainsi le coût expérimental et analytique. La prédiction des pools E_x à partir des données conventionnelles, nécessitant des analyses de sol habituellement réalisées en routine (i.e. les pools de cations échangeables Ca, Mg, K et Al, la mesure de la capacité d'échange cationique et la granulométrie), est également envisageable en acceptant une précision plus faible des prédictions.

Bien que notre jeu de données ne couvre pas l'ensemble de la variabilité des propriétés physico-chimiques des différents types de sol, ces premiers résultats montrent que l'approche indirecte est très prometteuse et elle nécessiterait d'être testée sur une plus large gamme d'échantillons de sol, afin de généraliser ces modèles. Il serait alors possible d'utiliser ces modèles pour approcher les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K en considérant les valeurs estimées comme indicatrices. Ces travaux démontrent également l'importance de la quantification des réservoirs autres qu'échangeables (avec un sel) pour mieux caractériser la biodisponibilité des cations nutritifs dans les sols forestiers.

Références

- Bel J, Legout A, Saint-André L, et al (2020) Conventional analysis methods underestimate the plant-available pools of calcium, magnesium and potassium in forest soils. *Sci Rep* 10:15703. doi: 10.1038/s41598-020-72741-w
- Blume JM, Smith D (1954) Determination of exchangeable calcium and cation-exchange capacity by equilibration with Ca-45. *Soil Sci* 77:9–18.
- Chadwick OA, Chorover J (2001) The chemistry of pedogenic thresholds. *Geoderma* 100:321–353. doi: 10.1016/S0016-7061(01)00027-1
- Collignon C, Ranger J, Turpault MP (2012) Seasonal dynamics of Al- and Fe-bearing secondary minerals in an acid forest soil: influence of Norway spruce roots (*Picea abies* (L.) Karst.). *Eur J Soil Sci* 63:592–602. doi: 10.1111/j.1365-2389.2012.01470.x
- Ebelhar SA (2008) Labile pool. In: Chesworth W (ed) *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Dordrecht, pp 425–426
- Fardeau JC (1993) Le phosphore assimilable des sols: sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments. *Agron EDP Sci* 13:317–331.
- Fardeau JC, Hétier JM, Jappe J (1979) Potassium assimilable du sol: identification au comportement des ions isotopiquement diluables. *CR AcadSci* 288:1039–1042.
- Frossard E, Sinaj J (1997) The isotope exchange kinetic technique: A method to describe the availability of inorganic nutrients. Applications to K, P, S and Zn. *Isot Environ Heal Stud* 33:61–77.
- Hamon RE, Bertrand I, McLaughlin MJ (2002) Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry. *Aust J Soil Res* 40:1371–1381.
- Hansson K, Laclau JP, Saint-André L, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 1: Common soil chemical analyses were poor predictors of stand productivity across a wide range of acidic forest soils. *For Ecol Manage* 461:117843. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117843
- Ladanai S, Ågren GI, Olsson BA (2010) Relationships between tree and soil properties in *Picea abies* and *Pinus sylvestris* forests in Sweden. *Ecosystems* 13:302–316. doi: 10.1007/s10021-010-9319-4
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 2: Towards redefining the concept by untangling the role of the different components of biogeochemical cycling. *For Ecol Manage* 461:117844. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117844
- Lucash MS, Yanai RD, Blum JD, Park BB (2012) Foliar Nutrient Concentrations Related to Soil Sources Across a Range of Sites in the Northeastern United States Citation Details. *Soil Sci Soc Am J* 76:674–683.
- Masozera C, Bouyer S (1971) Potassium et calcium labiles dans quelques types de sols tropicaux. In: *Sur l'emploi des radioisotopes et des rayonnements dans la recherche sur les relations sol-plante*. Vienne, p 12
- Mehra OP (1958) Iron Oxide Removal from Soils and Clays by a Dithionite-Citrate System Buffered with Sodium Bicarbonate. *Clays Clay Miner* 7:317–327. doi: 10.1346/ccmn.1958.0070122
- Nezat CA, Blum JD, Yanai RD, Hamburg SP (2007) A sequential extraction to determine the distribution of apatite in granitoid soil mineral pools with application to weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, NH, USA. *Appl geochemistry* 22:2406–2421.

- Ranger J, Turpault MP (1999) Input–output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management. *For Ecol Manage* 122:139–154. doi: 10.1016/S0378-1127(99)00038-9
- Reeve NG, Sumner ME (1969) Determination of exchangeable calcium in soils by isotopic dilution. *Agrochimophysica* 1:13–18. doi: ISSN : 0302-7112
- Richardson JB, Petrenko CL, Friedland AJ (2017) Base cations and micronutrients in forest soils along three clear-cut chronosequences in the northeastern United States. *Nutr Cycl Agroecosystems* 109:161–179. doi: 10.1007/s10705-017-9876-4
- Rosenstock NP, Stendahl J, van der Heijden G, et al (2019) Base cations in the soil bank: non-exchangeable pools may sustain centuries of net loss to forestry and leaching. *SOIL* 5:351–366. doi: 10.5194/soil-5-351-2019
- Sen Tran T, Giroux M, Fardeau JC (1988) Effects of Soil Properties on Plant-Available Phosphorus Determined by the Isotopic Dilution Phosphorus-32 Method. *Soil Sci Soc Am J* 52:1383–1390. doi: 10.2136/sssaj1988.03615995005200050033x
- Shetaya WH, Osterwalder S, Bigalke M, et al (2017) An Isotopic Dilution Approach for Quantifying Mercury Lability in Soils. *Environ Sci Technol Lett* 4:556–561. doi: 10.1021/acs.estlett.7b00510
- Sterckeman T, Carignan J, Srayeddin I, et al (2009) Availability of soil cadmium using stable and radioactive isotope dilution. *Geoderma* 153:372–378. doi: 10.1016/j.geoderma.2009.08.026
- Tamm O (1932) ÜBER DIE OXALATMETHODE IN DER CHEMISCHEN BODENANALYSE.
- Tamura T (1958) Identification of clay minerals from acid soils. *J Soil Sci* 9:141–147. doi: 10.1111/j.1365-2389.1958.tb01906.x
- van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150
- van der Heijden G, Henneron L, Dreyer E (2014a) La gestion de la fertilité des sols forestiers est-elle à un tournant ? Une conclusion transitoire. *Rev For Française* LXVI 4:641–644.
- van der Heijden G, Legout A, Mareschal L, et al (2017) Filling the gap in Ca input-output budgets in base-poor forest ecosystems: The contribution of non-crystalline phases evidenced by stable isotopic dilution. *Geochim Cosmochim Acta* 209:135–148. doi: 10.1016/j.gca.2017.04.018
- van der Heijden G, Legout A, Midwood AJ, et al (2013a) Mg and Ca root uptake and vertical transfer in soils assessed by an in situ ecosystem-scale multi-isotopic (^{26}Mg & ^{44}Ca) tracing experiment in a beech stand (Breuil-Chenue, France). *Plant Soil* 369:33–45. doi: 10.1007/s11104-012-1542-7
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2013b) Assessing Mg and Ca depletion from broadleaf forest soils and potential causes - A case study in the Morvan Mountains. *For Ecol Manage* 293:65–78. doi: 10.1016/j.foreco.2012.12.045
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2014b) The dynamics of calcium and magnesium inputs by throughfall in a forest ecosystem on base poor soil are very slow and conservative: Evidence from an isotopic tracing experiment (^{26}Mg and ^{44}Ca). *Biogeochemistry* 118:413–442. doi: 10.1007/s10533-013-9941-2
- Wickham H (2009) *ggplot2 : Elegant Graphics for Data Analysis*, 1st edn. Springer-Verlag New York

Chapitre IV

**Conventional analysis methods underestimate
the plant-available pools of calcium, magnesium
and potassium in forest soils**

Conventional analysis methods underestimate the plant-available pools of Calcium, Magnesium and Potassium in forest soils

Bel Jérémie¹, Legout Arnaud¹, Saint-André Laurent¹, Hall Steven J.², Löfgren Stefan³, Laclau Jean-Paul⁴ & van der Heijden Gregory^{1,*}

¹ INRAE Grand-EST Nancy, UR 1138 Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers, Route d'Amance, 54280, Champenoux, France

² Department of Ecology, Evolution, and Organismal Biology, Iowa State University, 251 Bessey Hall, Ames, IA 50011, USA

³ Department of Aquatic Sciences and Assessment, Swedish University of Agricultural Sciences, P.O. Box 7050, SE-750 07 Uppsala, Sweden

⁴ CIRAD, UMR 210 Ecologie fonctionnelle et biogéochimie des sols et des agro-écosystèmes, Campus SupAgro, Bâtiment 12 - 2 place Viala 34060 Montpellier Cedex 2, France

Scientific Reports

Volume 10, 24 september 2020, article number ; 15703

DOI : 10.1038/s41598-020-72741-w

Abstract

The plant-available pools of calcium, magnesium and potassium are assumed to be stored in the soil as exchangeable cations adsorbed on the cation exchange complex. In numerous forest ecosystems, despite very low plant-available pools, elevated forest productivities are sustained. We hypothesize that trees access nutrient sources in the soil that are currently unaccounted by conventional soil analysis methods. We carried out an isotopic dilution assay to quantify the plant-available pools of calcium, magnesium and potassium and trace the soil phases that support these pools in 143 individual soil samples covering 3 climatic zones and 5 different soil types. For 81%, 87% and 90% of the soil samples (respectively for Ca, Mg and K), the plant-available pools measured by isotopic dilution were greater than the conventional exchangeable pool. This additional pool is most likely supported by secondary non-crystalline mineral phases in interaction with soil organic matter and represents in many cases (respectively 43%, 27% and 47% of the soil samples) a substantial amount of plant-available nutrient cations (50% greater than the conventional exchangeable pools) that is likely to play an essential role in the biogeochemical functioning of forest ecosystems, in particular when the resources of Ca, Mg and K are low.

1. Introduction

Magnesium (Mg), calcium (Ca) and potassium (K) are three major and essential nutrients for plants (Marschner 1995). In forest ecosystems, their plant-available pools are assumed to be stored in the soil as dissolved cations in solution and as exchangeable cations adsorbed on the cation exchange complex (Bormann and Likens 1967; Ranger and Turpault 1999). This exchangeable pool is commonly measured in soil samples from an extraction with a concentrated salt reactant (*e.g.* NH_4Cl , BaCl_2 , etc.). Because, in most cases, fertilization and liming are not common practices in forestry, plant-available nutrient cations are, on the long term, mainly supplied by atmospheric deposition and mineral weathering and vary as a function of the net nutrient losses from the ecosystems: mainly harvested biomass exportation and nutrient leaching below the rooting zone.

Forest ecosystems are often developed on poorly fertile soils where the plant-available pools of nutrient cations are frequently very low (Badeau et al. 1999). In the context of global change, the sustainability of forest ecosystems and their chemical fertility is highly at risk due to

increasing nutritional, silvicultural and/or climatic pressures. Despite the decreasing acidity of atmospheric inputs since the 1980s in Europe and North America, many forest soils are still suffering from on-going acidification (Bailey et al. 2005; van der Heijden et al. 2011; Jonard et al. 2012; Johnson et al. 2018). In many cases, atmospheric inputs of nutrient cations have decreased over the past decades (Hedin et al. 1994; Hedin and Likens 1996; Likens et al. 1998; Lövblad et al. 2000; Jonard et al. 2012). Finally, nutrient outputs from the ecosystem are often increasing due to the intensification of silvicultural practices (biomass export, etc.) to meet the increasing demand for wood biomass. These practices may severely impact soil fertility (Achat et al. 2015), especially in forest ecosystems where the nutrient level is low (Thiffault et al. 2011). As a result, over the last decade degradation of forest soil fertility have been reported worldwide and are expected to increase (Jonard et al. 2015; Johnson et al. 2018; De Oliveira Garcia et al. 2018; Talkner et al. 2019).

It is however not yet fully understood how trees cope with very low nutrient resources in the soil and sustain long term forest productivity (Legout et al. 2014). Numerous studies have reported significant discrepancies between modelled and empirically measured changes in plant-available pools of nutrient cations in the soil: mass balance and dynamic models tend to exaggerate nutrient cation depletion from the soil (Löfgren et al. 2017) compared to measured changes in soil available pool between two dates (Casetou-Gustafson et al. 2020). In addition, many studies have reported discrepancies between chemical fertility (exchangeable pools, nutrient fluxes), tree nutrition (foliar nutrient concentrations) and forest productivity indicators (Lucash et al. 2012; van der Heijden et al. 2013; van Sundert et al. 2020; Hansson et al. 2020; Legout et al. 2020).

To explain these discrepancies, it has been hypothesized that the plant-available pool of nutrient cations may be larger than the exchangeable pool (van der Heijden et al. 2014; Richardson et al. 2017; Rosenstock et al. 2019; Casetou-Gustafson et al. 2020). Aluminium and iron (hydr)oxides as well as amorphous aluminosilicate structures, which are abundant in acidic soils, may develop a cationic exchange capacity and adsorb cations (Smeck et al. 1994). The amorphous nature and the dynamic dissolution/precipitation of these structures may cause the adsorbed cations to become temporally occluded (van Reeuwijk and de Villiers 1968; Collignon et al. 2012). In a highly weathered tropical soil, Hall and Huang (Hall and Huang 2017) (2017)

showed that a significant amount of Ca, Mg, and K was sequestered in iron (hydr)oxide secondary mineral phases. Moreover, potassium stored in part as “non-exchangeable” or fixed potassium (Sparks 1987) (held between adjacent tetrahedral phyllosilicate layers of micas and 2:1 clay minerals such as vermiculite or illite) may be available to plant uptake. The intensity of “non-exchangeable” K release has been related to root absorption and root activity (Hinsinger and Jaillard 1993) and may be a quite significant source of K for plant nutrition (Falk Øgaard and Krogstad 2005).

Quantifying plant-available pools in the soil through soil extraction methods is challenging because it is difficult to define a chemical reagent with the same nutrient extraction potential as plant roots and their associated microorganisms. Nevertheless, the isotopically exchangeable pool (noted E_K , E_{Ca} and E_{Mg}) quantified by the isotopic dilution method has been shown to be the most adequate approach to quantify the plant-available pools (Hamon et al. 2002; Ebelhar 2008). Using radio-isotopes, previous studies found that the K and Ca isotopically exchangeable pool was larger than the exchangeable pool (over 45 agricultural soil studied) (Blume and Smith 1954; Tendille et al. 1956; Newbould and Russell 1963; Reeve and Sumner 1969; Masozera and Bouyer 1971; Fardeau et al. 1979). Two recent studies (van der Heijden et al. 2017, 2018), focused on soil samples from the Breuil-Chenue experimental forest and using a stable isotopic dilution approach, i) showed that soil pools of Mg, Ca and K in addition to the exchangeable pool significantly contributed to chemical equilibrium reactions between the liquid and solid phases of the soil, and ii) suggested that these pools were supported by secondary non-crystalline mineral phases such as Al and Fe (hydr)oxides, and amorphous aluminosilicates.

The objectives of this study are twofold: (i) to test the hypothesis that nutrient cation pools other than the conventional exchangeable pool contribute to solid solution equilibrium in a variety of forest soils covering a wide range of climatic, edaphic, chemical fertility and tree species cover conditions; (ii) to characterize the variability of the isotopically exchangeable pools in relation to the physical and chemical properties of the soil in order to better describe the different soil phases that may act as a support for this additional plant-available pool.

2. Results

2.1. Isotopically exchangeable pools

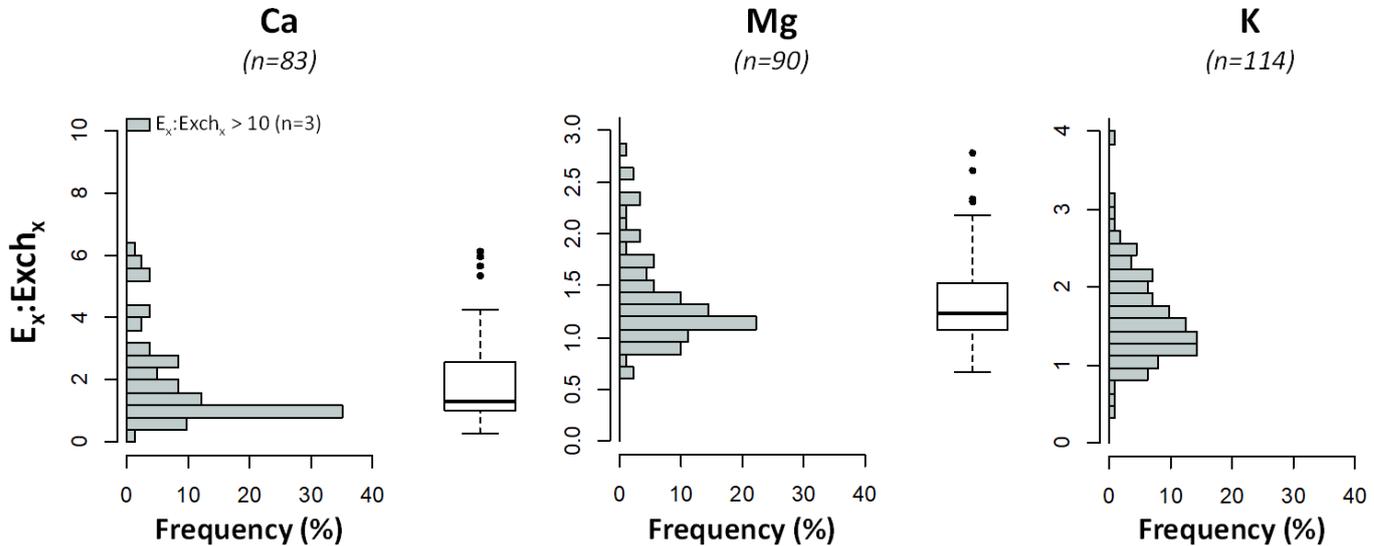


Figure IV-1. Histogram and boxplot of the distribution of the $E_x:Exch_x$ ratios for Ca, Mg and K. E_x represents the isotopically exchangeable pool and $Exch_x$ the conventional exchangeable pool. The number of validated samples (n) is given in brackets.

The ratio of the isotopically exchangeable over the conventional exchangeable pool ($E_x:Exch_x$) ranged from 0.28 to 31.76 for Ca, from 0.67 to 2.79 for Mg and from 0.47 to 3.99 for K (**Fig IV-1**, for individual results **table IV-S3** supplementary data) but E_{Ca} , E_{Mg} and E_K were larger than their respective exchangeable pool for the great majority of the soil samples: 81%, 87% and 90%, respectively, of soil samples had $E_x:Exch_x$ ratios above 1. The median ratios were respectively 1.30, 1.23 and 1.47 for Ca, Mg and K. The $E_{Ca}:Exch_{Ca}$ ratio was greater than 2 for one third of the samples and greater than 3 for 17%. For Mg and K, the $E_x:Exch_x$ ratio was greater than 2 for fewer samples compared to Ca: 10% and 24% respectively. The $E_x:Exch_x$ was higher for the samples with low $Exch_x$ pools (Fig 2). Over the entire dataset, the difference between the E_x and $Exch_x$ pools was statistically significant (paired Wilcoxon-Mann-Whitney test) for all three elements (p -value < 0.01 for K and Mg and p -value < 0.05 for Ca), although homoscedasticity was not verified for Mg.

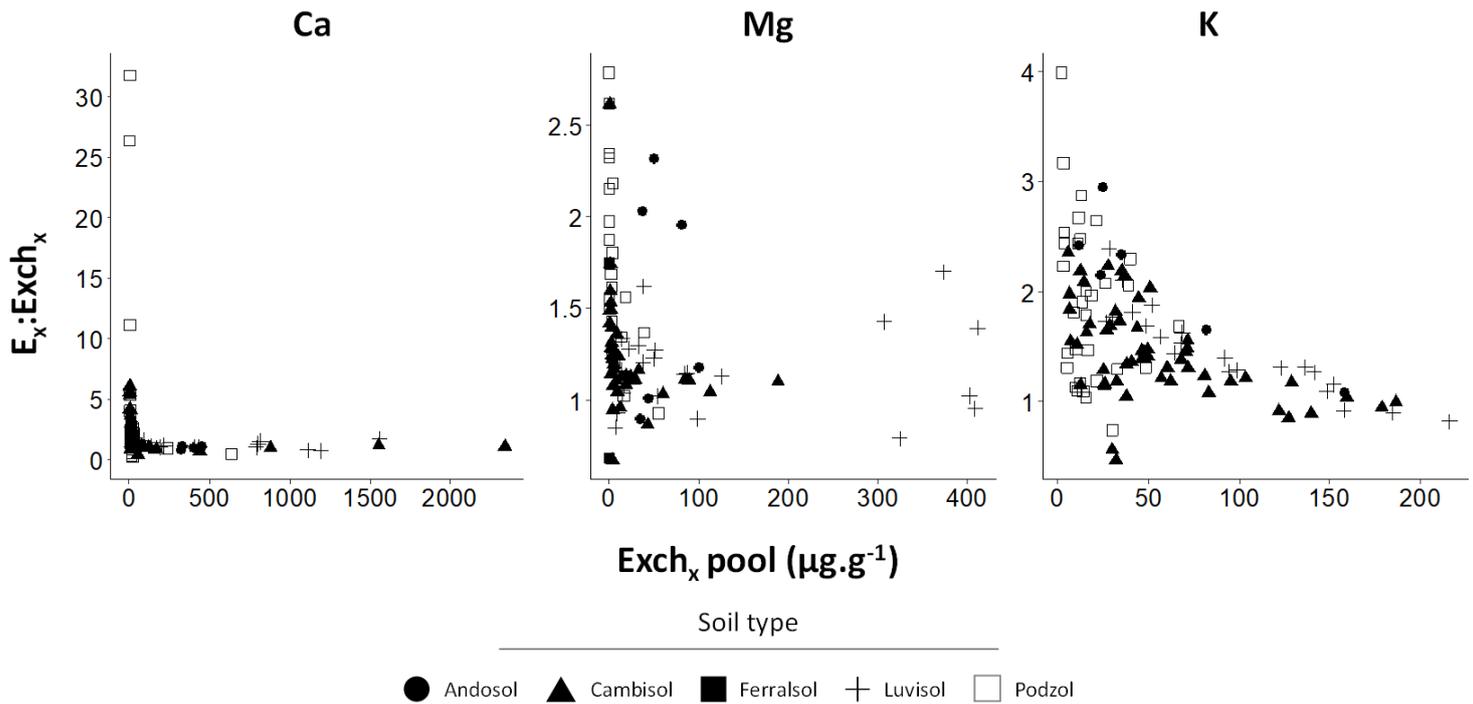


Figure IV-2. Relationship between the $E_x:Exch_x$ ratio and the conventional exchangeable ($Exch_x$) pools for Ca, Mg and K.

The repeatability of E_x measurements, estimated as the relative standard deviation was 16%, 14% and 8% for Ca, Mg and K respectively. Even when taking this analytical uncertainty into account, 58% (Ca), 62% (Mg) and 88% (K) of the samples had an E_x -pool significantly greater than the $Exch_x$ pool (data not shown). A small proportion of samples had E_x -pools lower than the $Exch_x$ pools ($E_x:Exch_x < 1$): 19%, 13% and 10% for Ca, Mg and K respectively.

Strong linear relationships were found between isotopically exchangeable pools and conventional exchangeable pools (**Fig IV-3**). Correlation coefficients were respectively 0.92, 0.92 and 0.88 for Ca, Mg and K (p -values < 0.001). Linear regression slopes were greater than the 1:1 slope for Ca and Mg whereas for K, linear regression slope was similar to the 1:1 slope but intercept was different. No other significant relationships were found between E_x pools of Ca, Mg and K and experimental data or soil physico-chemical properties over the entire dataset.

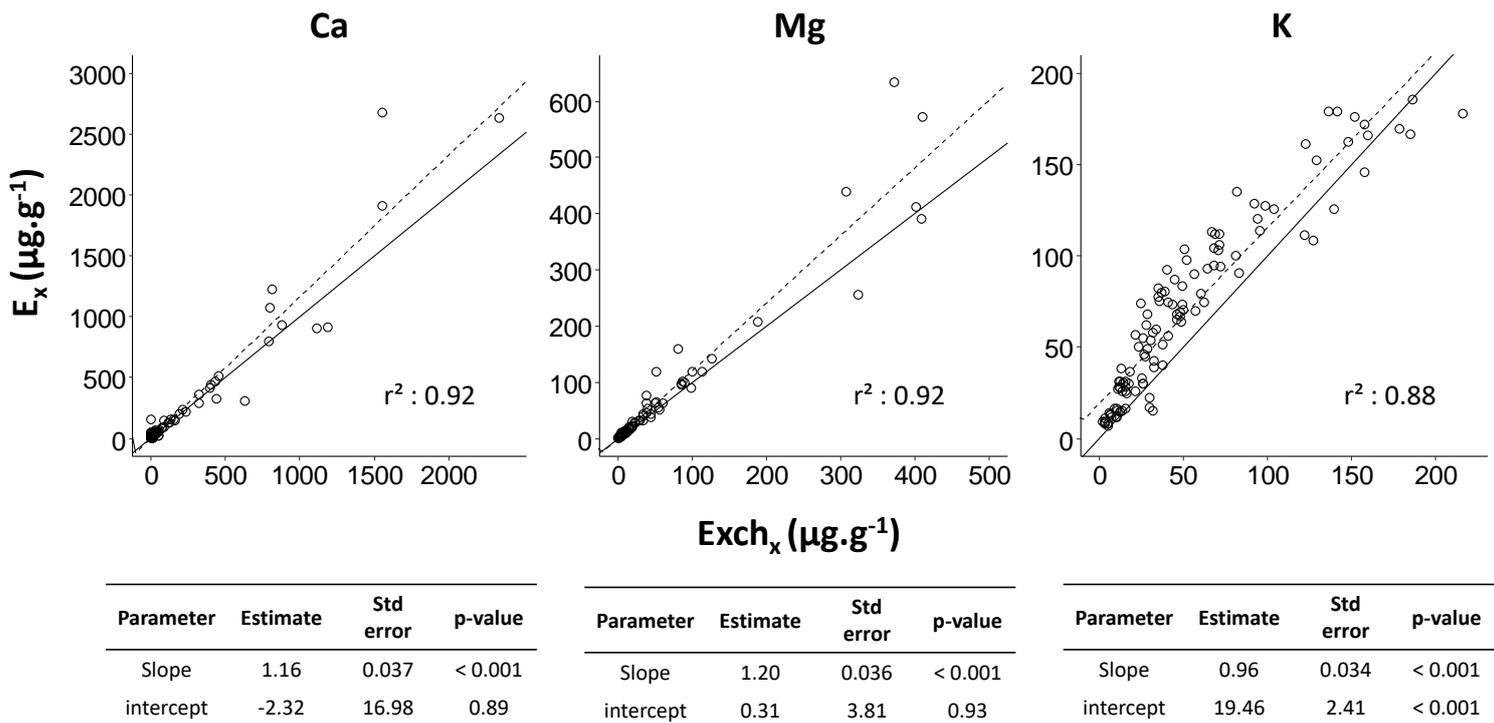


Figure IV-3. Relationship between isotopically exchangeable (E_x) and conventional exchangeable ($Exch_x$) pools for Ca, Mg and K. Linear regression parameters are given in each figure. Solid and dotted lines represent, respectively, $y:x = 1$ and linear regression.

2.2. Tracer recovery in the different soil pool

For all three elements, most of the tracer amounts recovered in the soil pools were found in the NH_4 extracted pools (**Fig IV-4**, for individual results **table IV-S4** supplementary): the median relative contribution for $NH_4\#1$ and $NH_4\#2$ was 68% and 17% for Ca, 90% and 5% for Mg and 85% and 7% for K, respectively. For Ca and Mg, the median relative contribution in the three pools was as follows: $NH_4\#1 > NH_4\#2 > HNO_3$. Potassium was similar to Ca and Mg but the median relative contribution in the $NH_4\#2$ pool was close to that in the HNO_3 pool (~7%). The relative contribution in the $NH_4\#1$ pool showed higher variability for Ca and Mg compared to the other soil pools, the interquartile was 37% and 71%, respectively, whereas only 7% for K.

Analytically significant amounts of isotope tracers were found in the HNO₃-extracted pool for almost all samples for Ca and K: 95% and 96% respectively whereas only 19% for Mg (**Fig IV-4**). For all three elements, the relative contribution of the HNO₃ extracted pool was lower than in the NH₄ extracted pools: the median relative contribution was 10%, 0% and 7% for Ca, Mg and K, respectively, and the maximum value across soil samples reached 45% for Ca, 74% for Mg and 34% for K.

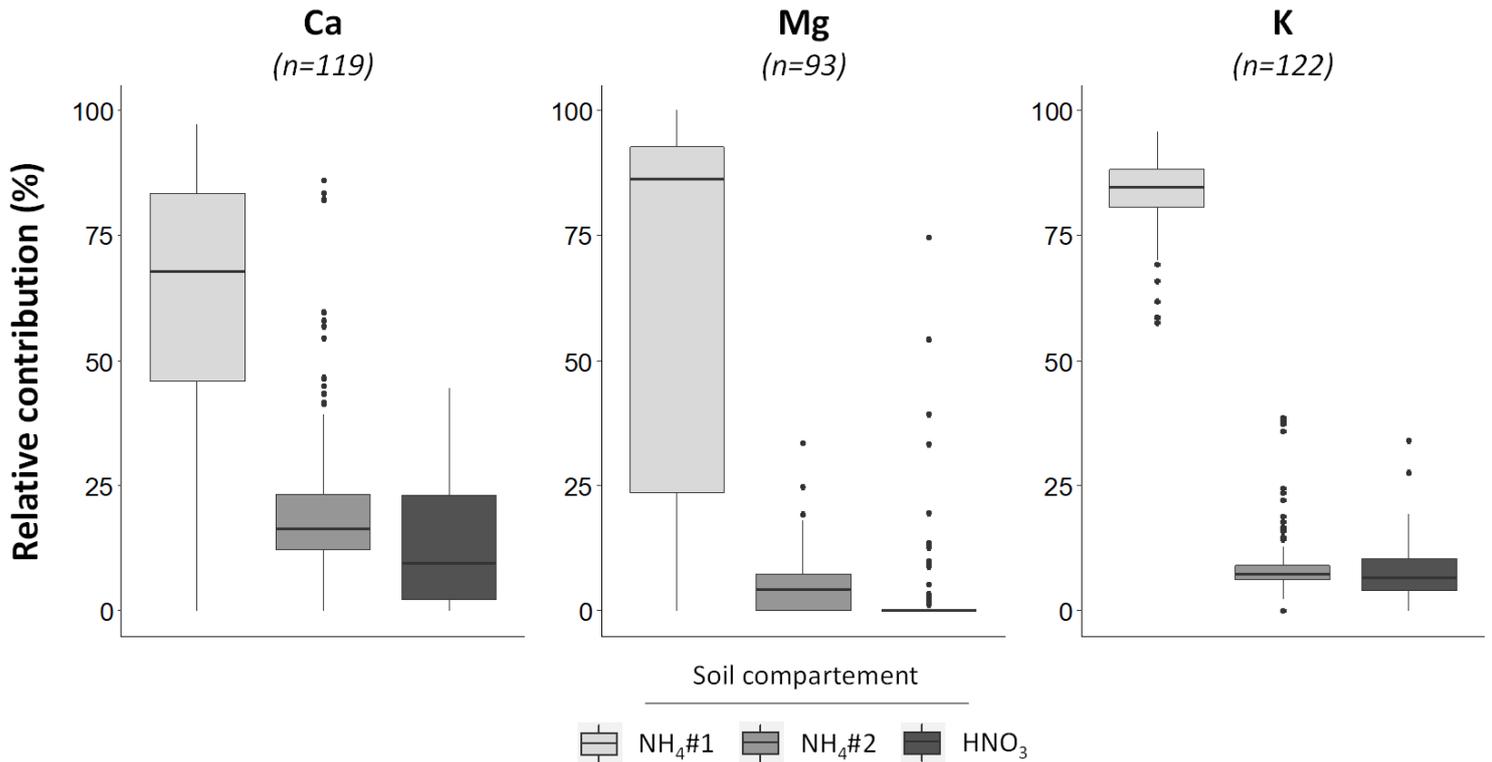


Figure IV-4. Relative contribution (%) of each extracted soil pool (NH₄#1, NH₄#2 and HNO₃) to the isotopically exchangeable pool (Ex) for Ca, Mg and K. The number of validated samples (n) is given in brackets.

Significant relationships were found between the Ca-tracer recovery in the HNO₃-extracted and the total carbon content in the soil sample, as well as with HNO₃-extracted iron content (**Fig IV-5 a, b**). Correlation coefficients were 0.65 and 0.42 respectively (p-value < 0.001). For Breuil samples, significant relationships were also found between the Ca-tracer recovery in the HNO₃-extracted pool with Tamura and Pyrophosphate extractible Fe (**Fig IV-5 c, d**). Correlation coefficients were 0.48 and 0.62 respectively (p-value < 0.001). To a lesser extent, the relative contribution of Ca HNO₃-extracted pool to E_{Ca} was significantly correlated to the

HNO₃-extracted pool of Al (correlation coefficient of 0.17 and p-value < 0.001) (**Fig IV-5 e**). A significant relationship was found between the isotopically exchangeable fraction of the HNO₃-extracted pool of K and the clay content in soil samples (r-squared = 0.47, p-value < 0.001) (**Fig IV-6**), but the relationship was not significant for Ca and Mg.

3. Discussion

3.1. Isotopically exchangeable pools

Our results show over the whole dataset, for the majority of these samples, that the isotopically exchangeable pools (E_x) of Ca, Mg and K are larger than the conventional exchangeable pool ($Exch_x$). The majority of samples showed an $E_x:Exch_x$ ratio greater than 1 for Ca, Mg and K. For a substantial proportion of the dataset (43%, 27% and 47% respectively for Ca, Mg and K), E_x pools were more than 50% larger than the $Exch_x$ pools. This trend was confirmed by a Wilcoxon-Mann-Whitney comparison test that showed that isotopically exchangeable pools were significantly larger than their respective exchangeable pool, though homoscedasticity between the compared pools was not met for Mg. Our results are consistent with previous studies for Ca and K. Blum & Smith (1953) (Blume and Smith 1954) showed, in an isotopic dilution assay using the ⁴⁵Ca radiogenic isotope over 16 different type of soils, that E_{Ca} was significantly greater than $Exch_{Ca}$ for 6 soil samples, lower for 2 samples and not significantly different for 8 samples. Reeve *et.al.* (1969) (Reeve and Sumner 1969) showed that 5 soil samples out of 7 showed an E_{Ca} pool greater than the $Exch_{Ca}$ pool. For K, apart from the study by Graham & Fox (1971) (Graham and Fox 1971) in which 4 out of the 11 studied soil samples showed an E_K pool lower than the $Exch_K$ pool, all other studies showed E_K pools systematically greater than the $Exch_K$ pools (Tendille et al. 1956; Masozera and Bouyer 1971; Fardeau et al. 1979).

For a limited proportion of the dataset, the E_x pool was smaller than the $Exch_x$ pool. This result was unexpected because the conventional exchangeable pool is assumed to be in rapid equilibrium with soil solution (Bormann and Likens 1967; Ranger and Turpault 1999). The isotopically exchangeable pool was thus expected to be at least equal to the exchangeable pool. However, for the majority of the samples of this study, as reported in previous assays (van der Heijden et al. 2017, 2018), only a fraction of the exchangeable pool contributed to the isotopic

equilibrium (the isotopically exchangeable proportion of the $\text{NH}_4\#1$ and $\text{NH}_4\#2$ extracted pools were (median): 68% and 54% for Ca, 81% and 28% for Mg, and 88% and 53% for K). That less than 100% of the exchangeable pool reached isotopic equilibrium with the isotopically labelled solution is most likely due to the fact that certain sites that are extractible with a highly concentrated reagent may not be exchangeable with a dilute solution (Ross et al. 2008). The isotopically exchangeable proportion of the $\text{NH}_4\#1$ and $\text{NH}_4\#2$ extracted pools of Ca, Mg and K was non linearly and positively correlated to their respective conventional exchangeable pool. This result agrees with the mechanisms of ion exchange by which the likelihood of a given dissolved cation to undergo exchange with a cation adsorbed on the cationic exchange complex is proportional to the abundance of the adsorbed cation on the cationic exchange complex (Reuss and Johnson 1986).

Despite these results, for all samples showing E_x lower or similar in size to Exch_x , analytically significant amounts of isotope tracer were recovered in the HNO_3 -extracted soil pool (**table IV-S3** supplementary). Hence, for these samples as well, the results of this study show that soil phases other than the conventional exchangeable pool directly contribute to the geochemical equilibrium processes for Ca, Mg and K. These geochemically reactive pools of Ca, Mg and K unaccounted for by conventional soil analysis methods are likely to play a very important role in the biogeochemically functioning of forest ecosystems, most particularly in soils where the conventional exchangeable pools are low (**Fig IV-2**).

3.2. Storage forms

Unsurprisingly, the isotopically exchangeable pools of Ca, Mg and K were mainly composed of NH_4 -exchangeable pools of Ca, Mg and K and their variability was mainly explained by the Ca, Mg and K exchangeable pool variability (**Fig IV-3**). Nevertheless, for the great majority of the dataset, isotope tracers were also recovered in the HNO_3 -extracted pool. The amounts of isotope tracer recovered in this pool were analytically significant and, for numerous samples, substantial (**Fig IV-4**). It is unlikely that this recovery may be explained by residuals amounts of isotope tracer after the two AcONH_4 extractions ($\text{NH}_4\#1$ and $\text{NH}_4\#2$) because an intermediary rinsing extraction was performed. Concentrations of nutrient cations measured in this rinsing extraction were generally low and often too low (for 41%, 51% and 91% of samples for Ca, Mg and K, respectively) for isotopic analysis.

3.2.1. Calcium

The HNO₃-extracted pool of Ca accounted for a significant proportion of the measured E_{Ca} pool (**Fig IV-4**), and was larger for Ca compared to Mg and K. The Ca-tracer recovery in the HNO₃-extracted pool was strongly correlated to the soil carbon content ($R^2 = 0.65$, p -value < 0.001) (**Fig IV-5a**) thus suggesting that significant amounts of Ca adsorbed or chelated to organic compounds in the soil contribute directly to geochemical equilibrium reactions but are not extracted by conventional exchangeable cation extractions. This may be explained by the much higher affinity of organic compounds for Ca compared to most other cations such as NH₄⁺ (Salmon 1964; André and Pijarowski 1977; Ponette 1997).

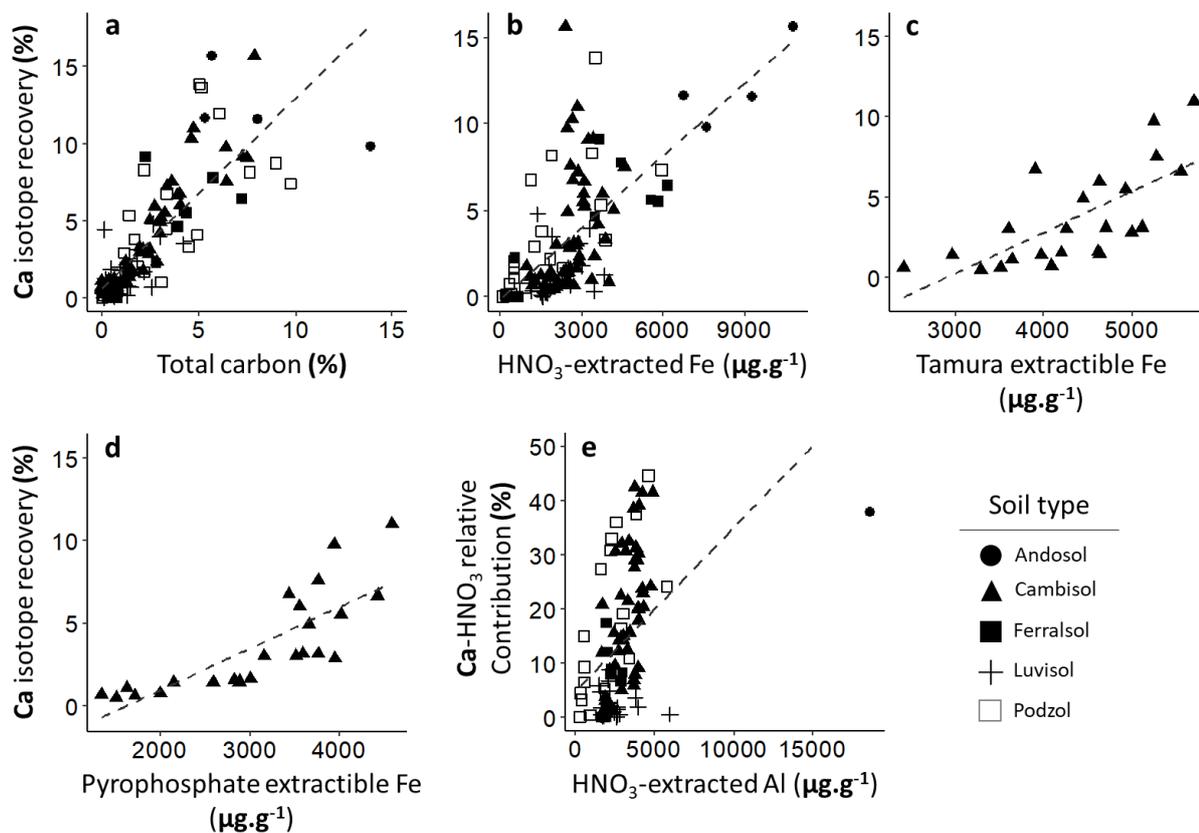


Figure IV-5. Relationship between the isotopic recovery of Ca in the HNO₃-extracted pool and (a) total carbon, (b) Fe HNO₃-extracted pool, (c) Tamura and (d) pyrophosphate extractible Fe. (e) shows the relationship between the relative contribution of the Ca HNO₃-extracted pool and the Al HNO₃-extracted pool. The linear regressions are represented by the dotted lines.

A strong and significant correlation was also found between the Ca-tracer recovery in the HNO₃-extracted pool and the HNO₃-extracted pool of Fe ($R^2=0.42$, p -value < 0.001) (**Fig IV-**

5 b). For the Breuil samples, Tamura-extracted and pyrophosphate-extracted Fe (**Fig IV-5c and d**) were also correlated to Ca-tracer recovery in the HNO₃-extracted pool (r^2 0.48 and 0.62 respectively for Tamura and pyrophosphate. p -values < 0.01). The Ca HNO₃-extracted pool relative contribution was also significantly correlated to the HNO₃-extracted pool of Al ($R^2=0.17$ p -value < 0.001) (**Fig IV-5 e**). Because these different soil extractions mainly dissolve Fe and Al (hydr)oxides, it is likely that these amorphous secondary minerals act as a support to a pool of isotopically exchangeable Ca. In agreement with these results, the greatest $E_{Ca}:Exch_{Ca}$ ratios were found in podzol and aluminic cambisol soil samples where the soil organic matter and Fe and Al (hydr)oxides are abundant and likely to play an important role in calcium biogeochemistry.

Iron and Aluminium (hydr)oxides are common in soils (Sparks 2003) and occur as amorphous minerals ranging from short-range-ordered to increasingly crystalline phases. The point of zero charge (pzc) of synthetic Fe and Al (hydr)oxides is generally above 6 (Kosmulski 2009). Yet in natural environment, Fe and Al (hydro)oxides pzc are lower (Schwertmann and Fechter 1982) so that negative charges could be developed at $pH_{water} < 6$ and direct adsorption of Ca on such minerals has been demonstrated for the range of soil pH in our soil samples (pH_{H_2O} range: 3.4-6.2, median 4.6) (Kinniburgh et al. 1976; Grove et al. 1981; Myers et al. 1988; Smeck et al. 1994). However direct adsorption is unlikely to be the main storage mechanism for the isotopically exchangeable Ca in the HNO₃-extracted pool. Instead, the results of our study strongly suggest that geochemically reactive Ca is retained on the surface of Al and Fe (hydr)oxide minerals through an anion-bridge such as sulfate or organic acids as suggested by previous studies (Hall and Huang 2017; Rowley et al. 2018; van der Heijden et al. 2018).

Van der Heijden et al. (2017, 2018) in a similar isotopic dilution experiment carried out on an aluminic cambisol soil, showed a non-negligible contribution of Ca, Mg and K pools extracted with a Tamm reagent and with a HNO₃ reagent (1 mol.L⁻¹) to the isotopically exchangeable pools. They suggested that the main storage form of Ca and Mg in the Tamm and HNO₃-extracted pools was cations indirectly adsorbed on Al and Fe oxides and hydroxides through i) P or organic acid-mediated bridging or ii) occluded within Fe and Al phases or their organic co-precipitates. Additionally, Hall and Huang (2017) showed the role of occluded cations in sustaining plant nutrition through Fe-(hydr)oxide reduction, whereby these occluded cations

may act as a bank to replenish exchangeable pools on timescales of hours to months. Iron and aluminium (hydr)oxides are thus likely to be the support of a geochemically reactive HNO_3 pool of Ca which is not extracted by conventional exchangeable cation methods. This may be explained by possible temporary occlusion of Ca in these soil phases: occluded in supramolecular aggregates where various large organic molecules are held together by van der Waals forces, hydrogen bonds and metal bridging involving Ca and Fe-hydr(oxides) (Simpson et al. 2002; Clarholm et al. 2015; Sowers et al. 2018). These amorphous minerals are known to very dynamically precipitate and dissolve over time as a result of changes in the physical and chemical properties of the soil solution (Collignon et al. 2012) and under the influence of microbial and plant activity (Hall and Huang 2017).

3.2.2. Potassium

Similar to Ca, K tracer was recovered in the HNO_3 -extracted pool for 97% of all validated samples and represented on average 8% of the isotopically exchangeable pool. A strong linear and positive correlation was found between the clay content and the isotopically exchangeable fraction of the HNO_3 extracted K pool ($R^2=0.52$; $p<0.001$) (**Fig IV-6**). This relation is most likely explained by the presence of “fixed” potassium (K-specific exchange sites) in phyllosilicates (Sparks 1987), held between adjacent tetrahedral phyllosilicate layers of micas and 2:1 clay minerals such as vermiculite or illite, but not extractible with concentrated salt extractions such as NH_4^+ (Meyer and Jungk 1993; Moritsuka et al. 2004). K specific ion-exchange reactions between the soil solution and the clay-interlayer potassium pools may have occurred during the isotopic equilibrium stage of the experiment. The HNO_3 reagent (1 mol.L^{-1}) is likely to have caused a sufficient weathering of the phyllosilicates and a subsequent release of interlayer potassium. However, quantitative phyllosilicate mineralogy would be necessary to better characterize the role of clay minerals and K-specific exchange sites because 1) not all phyllosilicates contain pools of interlayer potassium and 2) the pools of interlayer K may respond very differently depending on the phyllosilicate. For instance, at the Breuil site where quantitative mineralogy was available (Mareschal 2008), a positive correlation was found between the vermiculite content with K tracer recovery, the relative contribution of the HNO_3 -extracted K pool to E_K and the $E_K:\text{Exch}_K$ ratio. By contrast, no correlations were found with the kaolinite (1:1 clay mineral) or illite (2:1 clay mineral) contents (data not shown).

The highest relative contribution of the HNO_3 -extracted pool of K and $E_K:\text{Exch}_K$ ratios were however found for the andosol and podzol soil types where the clay content is low. It is thus likely that other forms of storage in addition to interlayer K contribute to supporting the

isotopically exchangeable pools of K. Relationships in our dataset suggest that potassium may also be adsorbed through ion-exchange processes on the surface of amorphous silica gels and aluminosilicates. For the Breuil-Chenue site, a positive correlation was found between, on the one hand, the difference between E_K and $Exch_K$ and, on the other hand, the difference between the Tamm-extracted K pool and $Exch_K$ ($R^2=0.36$, $p<0.001$) (data not shown). The Tamm reagent, although non-selective, primarily dissolves (acid dissolution and chelation) poorly crystallized Al and Fe (hydr)oxides and amorphous aluminosilicates. These adsorption sites may be K-specific or occluded and thus not accounted for by conventional exchangeable cation pool extractions. A previous isotopic dilution assay also suggested that Tamm labile pools of K were mainly linked to amorphous aluminosilicate phases (van der Heijden et al. 2018).

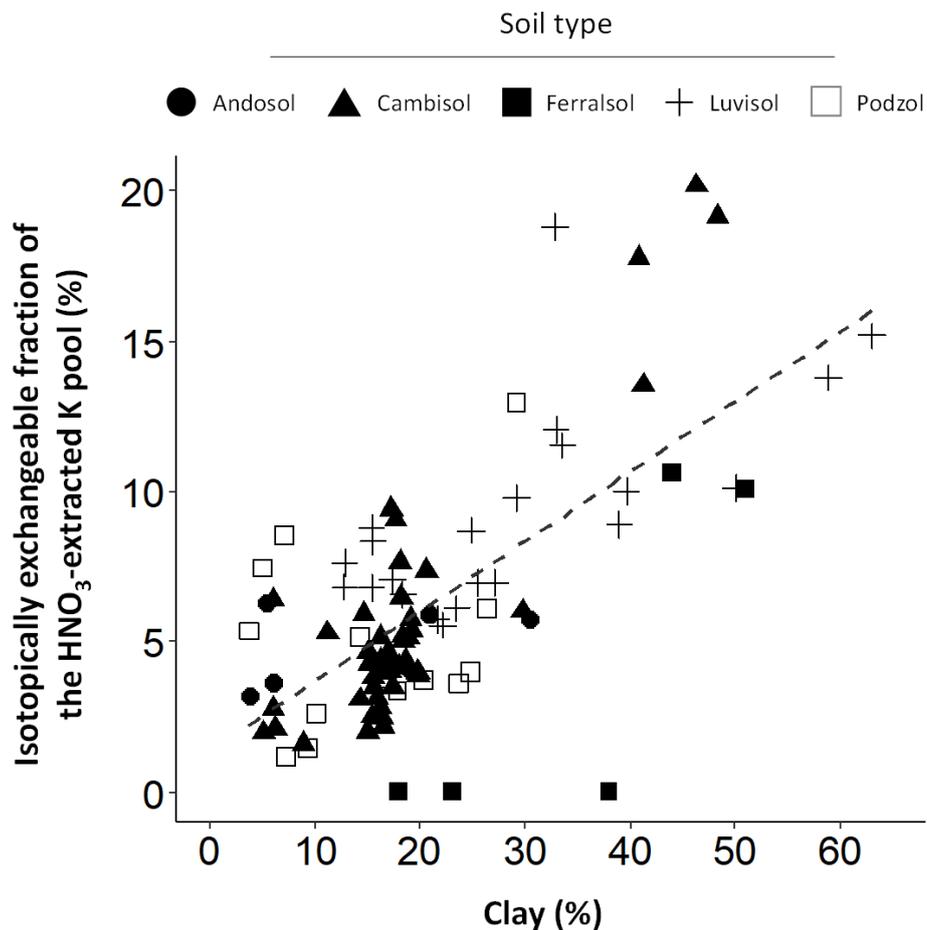


Figure IV-6. Relationship between the percentage of clay (texture class < 2 μm) in soil samples and the isotopically exchangeable fraction of the HNO₃-extracted K pool. The linear regression is represented by the dotted line.

3.2.3. Magnesium

In contrast with Ca and K, analytically significant amounts of Mg tracer were only found in the HNO₃-extracted pool in 19% of the dataset. However, it is likely that this difference with Ca and K is not or not solely the result of a very contrasting behaviour of Mg in the geochemical equilibrium processes. Indeed, a previous study using a similar isotopic dilution approach showed that soil phases extracted with Tamm and HNO₃ reagents significantly contributed (up to 11%) to the Mg geochemical equilibrium between the solution and the soil (van der Heijden et al. 2017) in the Breuil-Chenue soil profile. It is most likely that the behaviour of Mg observed in the current isotopic dilution assay is due to the experimental design: the quantity of isotopically enriched Mg was probably too small to efficiently isotopically label soil phases other than the exchangeable pool. Compared to Ca and K, in the majority of samples, large amounts of Mg were extracted from the soil during the HNO₃-extraction step most likely due to the dissolution of Mg-bearing soil minerals (biotite, muscovite, vermiculite, chlorite, etc.) making isotope tracer recovery difficult to analytically resolve (high isotopic dilution). Indeed, the ratio of the amount of isotope tracer applied over the HNO₃-extracted pool size was much lower for Mg (0.074), than for Ca (1.33) or K (0.246). This demonstrates the importance of the experimental parameters when setting up and the limits of isotopic dilution assays: the concentration of the tracing solution should be as close as possible as *in situ* concentrations and in the same time, the amount of applied tracer should be sufficiently high to ensure the isotopic labelling of the different studied soil phases.

For the limited number of samples for which Mg isotope tracer was recovered in the HNO₃ extracted Mg pool, no significant relations were found with the other variables of the dataset. However, the highest E_{Mg}:Exch_{Mg} ratios were found in andosol and podzol soil types similarly to both Ca and K. In a previous isotopic dilution assay (van der Heijden et al. 2018), geochemically reactive Mg was shown to be stored in Tamm and HNO₃ extracted soil phases in forms close to those previously discussed for Ca: adsorbed to Al and Fe (hydr)oxide secondary minerals through anion-bridges.

3.3. Implication at the soil profile scale

Nearly all sites had E_x soil profile stocks (kg·ha⁻¹) greater than the Exch_x stocks (respectively 82%, 94% and 95% of samples for Ca, Mg and K) (**table IV-S5 supplementary**). For calcium, E_{Ca} stocks were two-fold greater than Exch_{Ca} stocks for nearly half of the sites (47%), three-

fold greater for 24% of the sites. Comparatively, less sites had E_{Mg} and E_K stocks which were at least two-fold greater than $Exch_{Mg}$ and $Exch_K$ (6% and 32%, respectively). The relative differences between E_X and $Exch_X$ stocks were greatest for the sites with low exchangeable pools of Ca, Mg and K. Differences represented in median $+73 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ for Ca (range from -37 to $+960 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), $+12 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (from -9 to $+927 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) for Mg and $+121 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ for K (from -3 to $+441 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) (**Fig IV-7**). These results highlight that at the soil profile scale, the conventional exchangeable pools may greatly underestimate the pool of cations that contribute to geochemical equilibrium between the soil and the solution and thus to the plant-available pools.

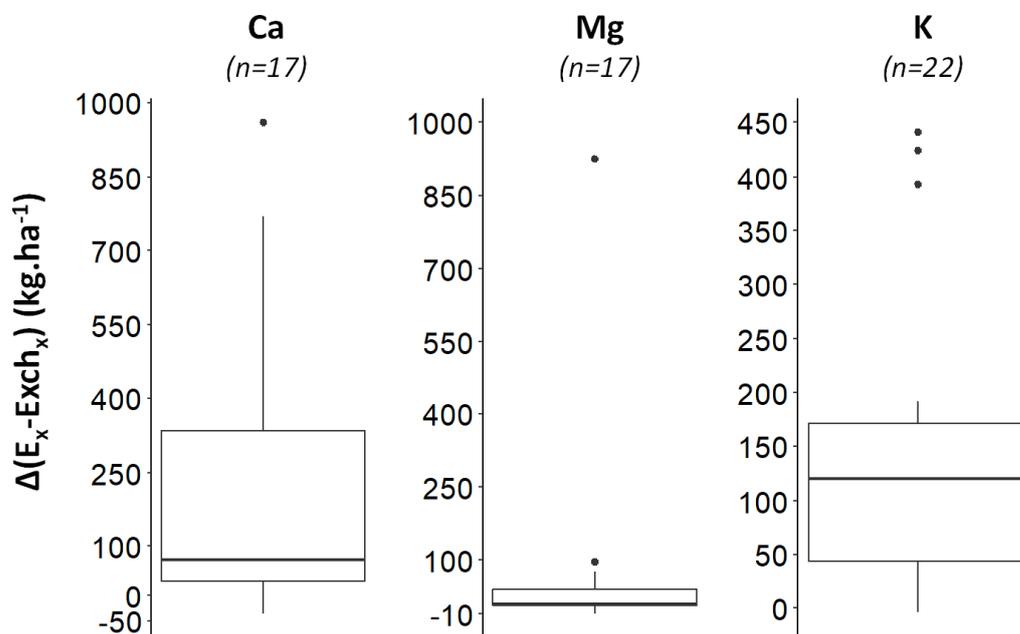


Figure IV-7. Boxplot distribution of the differences between Ex and Exch_x stocks at the soil profile scale for Ca, Mg and K. The number of soil profiles (n) is given in brackets.

In the European beech (*Fagus sylvatica* L.) plot of the Breuil-Chenué experimental site, nutrient input-output budgets predicted a depletion of the exchangeable pools of Ca ($3.1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{yr}^{-1}$) and Mg ($0.8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{yr}^{-1}$) in the soil profile. Evidence from an isotopic tracing experiment (van der Heijden et al. 2014) concurred with the predicted Mg depletion but showed that the exchangeable pools of Ca had not decreased. The present study shows that isotopically exchangeable pool of Ca (0-70cm) was much greater ($138 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) than the exchangeable pool ($73 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) whereas the isotopically exchangeable and exchangeable pools of Mg were similar (35 and $33 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, respectively). It is most likely that the unaccounted pool of isotopically

exchangeable Ca has contributed to buffering the depletion of the conventional exchangeable pools over time.

Plant driven processes in specific soil zones can also increase the stocks of plant-available nutrient cations. The consequences of biogeochemical processes on nutrient release within the rhizosphere of plant roots are well documented (York et al. 2016) . A recent study at the Itatinga experimental site (Brazil) sampled in our study suggested that root-induced weathering of K-bearing minerals, partly related to enhanced rhizosphere acidification could explain the observed increase in exchangeable K concentration within the rhizosphere of *Eucalyptus grandis* trees (Pradier et al. 2017)

4. Conclusion

This study validated, for a wide variety of forest soils, the hypothesis that pools of Ca, Mg and K in the soil in addition to the exchangeable pools contribute directly and on short time scales to the geochemical equilibrium processes between the soil and solution. Although the isotopically exchangeable pools of Ca, Mg and K vary widely between the different soil samples, these pools are in many cases substantially greater compared to their respective conventional exchangeable pool. The differences between the E_X and $Exch_X$ pools were most remarkable for Ca and K, and lesser for Mg. These previously unaccounted pools of Mg, Ca and K in the soil fertility diagnostic are most likely to play an essential role in the biogeochemical functioning of forest ecosystems, in particular in ecosystems where the resources of Ca, Mg and K are low, by providing a supplementary buffer capacity to the depletion of cations. These groundbreaking results enable to reframe the conceptual model of plant available pool by integrating this additional pool of available nutrient cations (**Fig IV-8**).

Soil phases extracted with weak to strong acid dissolution extraction methods are likely to support source and sink pools of Ca, K and possibly Mg. Hypotheses of the nature of these soil phases may be formulated. The isotopically exchangeable pool of Ca appears to be associated with amorphous and poorly crystallized secondary minerals through interactions with soil organic matter, whereas the isotopically exchangeable pool of K is likely associated with K-specific sites of phyllosilicates and amorphous aluminosilicates. These soil phases in addition to being a support for plant-available cations over short time scales may also significantly

contribute to the long-term plant-availability as a source of cations released by their mineral weathering.

This study shows that the use of stable isotopic tracers to quantify the plant-available pools of Ca, Mg, and K on short time scales (source and sink pools) is both adequate and relevant in order to better understand biogeochemical cycling and tree nutrition in forest ecosystems. Although the precise identification and characterization of the soil phases that support the geochemically reactive pools and their interactions is a challenge, it is a vital step to better understanding and quantifying their role in soil geochemistry and stable isotope approaches are a powerful tool to achieve this goal.

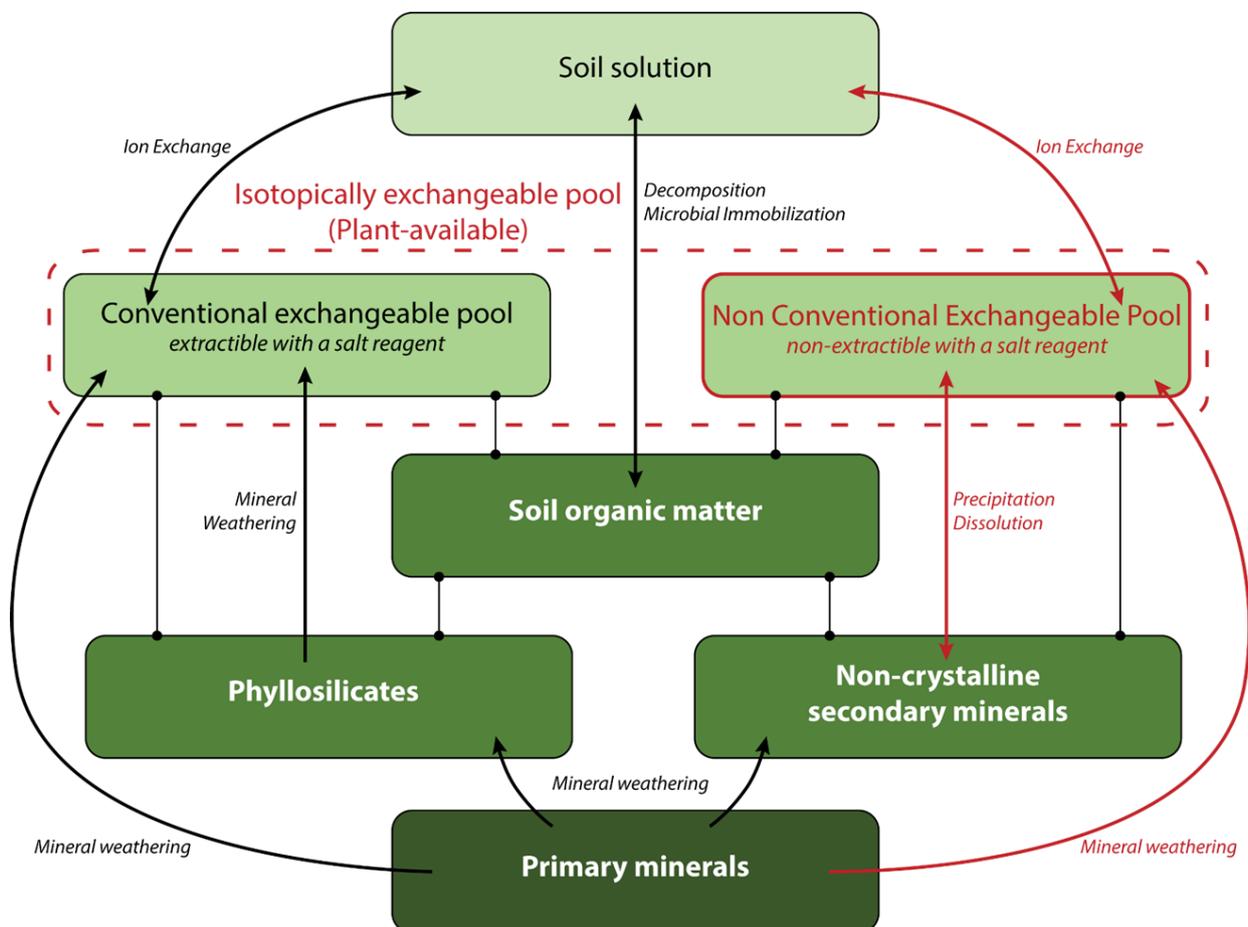


Figure IV-8. Conceptual model of Ca, Mg and K plant-availability. Dot-ended lines symbolize a support function. Black boxes and arrows symbolize the pools and fluxes of nutrient cations that are taken in the current conceptual model. Red boxes and arrows represent the pools and fluxes evidenced by the present study.

5. Material and Methods

5.1. Study sites

Twenty-six sites from 4 countries were selected amongst long-term forest monitoring networks (French ICP-forests level II sites and Swedish ICP-Integrated Monitoring sites), ANAEE/IN-SYLVA experimental sites as well as the Luquillo Critical Zone Observatory in Puerto Rico (**table IV-S1 supplementary**) in order to cover a range of acidic ($\text{pH}_{\text{water}} < 6$) and non-hydromorphic soils from a wide variety of climatic, edaphic, chemical fertility and tree species cover conditions. The scope of this study focuses on acidic soils as they are representative of a large proportion of forest ecosystems and are particularly sensitive to disturbances. When several replicates of soil profiles were sampled in each plot, a composite soil profile was established from the archived soil samples. Depending on the number of sampled soil layers, a maximum of 5 soil layers covering the entire available profile were selected for each plot. Each plot was covered by one dominant tree species. All sites, except the Swedish IM sites which are located in natural reserves, followed conventional and local forest management. The dataset contained no fertilized plots apart from Itatinga (Brazil), where background fertilization was added in all plots for every rotation similar to commercial plantations ($300 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ NPK - 10:20:10). The global dataset was composed of 143 individual samples and encompasses 5 different types of soil, 11 tree species and 3 climatic zone.

The dataset was compiled from different databases encompassing soil physical and chemical properties measured in different laboratories following different protocols (**table IV-S2 supplementary**). The soil physical and chemical property dataset included particle size content distribution (*i.e.* clay, silt, sand), bulk density, total carbon and total nitrogen measured by wet combustion (Kjeldhal method for N ; Walkey and Black or Anne method for C) or dry combustion and exchangeable cations (NH_4Cl , KCl , BaCl_2 , NH_4OAc or cobaltihexamine), noted Exch_{Ca} , Exch_{Mg} and Exch_{K} . The sum of exchangeable base cations (S) and exchange acidity (EA) were respectively defined as the sum of exchangeable Ca, Mg and K and as the sum of exchangeable Al and protons. In addition, specific extractions of soil phases were included, in particular Tamm, Tamura, Mehra-Jackson and pyrophosphate extractions.

5.2. Isotopically exchangeable pools of Mg, Ca and K

The stable isotopic dilution technique was used to quantify the pools of Ca, Mg and K stored in the soil that may exchange rapidly with ions of the same element in the soil solution, so as to replace these ions in solution as they become lost from the system through plant uptake, leaching, or other output fluxes (isotopically exchangeable pool noted E_{Ca} , E_{Mg} and E_K).

A ^{44}Ca , ^{26}Mg and ^{41}K labelled solution (concentration: 800, 200 and 500 $\mu g \cdot L^{-1}$ for Ca, Mg and K respectively) was made up from dissolved $^{44}CaCO_3$ (96.45 atom% ^{44}Ca), ^{26}MgO (99.25 atom% ^{26}Mg) and ^{41}KCl (97 atom% ^{41}K). The pH_{water} of the labelled solution was adjusted with purified nitric acid to the soil pH_{H_2O} of each sample. For each soil sample, 2.50 g of 2 mm-sieved dry soil were placed in a 50 mL polypropylene tube and 50 mL of the labelled solution were introduced. Tubes were immediately capped and placed in a continuous shaker. After 1h, 6h, 24h and 48h, the tubes were centrifuged (3000 $rot \cdot min^{-1}$) during 20min to sample a 12.5 mL aliquot of the supernatant solution for chemical and isotopic analyses. Tubes were then vortexed and replaced in the continuous shaker until the following time step. The isotopic variation in the solution enables to quantify the isotopically exchangeable pools of Ca, Mg and K at different stages of the equilibrium process.

After the 48h time step, a four-stage sequential soil extraction protocol was conducted:

1. 50 mL of 1 $mol \cdot L^{-1}$ ammonium acetate (unbuffered) continuously shaken during 1h. Hereafter referred as $NH_4\#1$.
2. 50 mL of 1 $mol \cdot L^{-1}$ ammonium acetate during (unbuffered) continuously shaken during 24h. Hereafter referred as $NH_4\#2$.
3. 50 mL of 0.1 $mol \cdot L^{-1}$ ammonium acetate at $pH = 3$ (nitric acid) continuously shaken during 3h.
4. 50 mL of 1 $mol \cdot L^{-1}$ nitric acid continuously shaken during 20h. Hereafter referred as HNO_3 .

Ammonium acetate extracts the pools of cations stored in an ion-exchangeable form. The 0.1 $mol \cdot L^{-1}$ ammonium acetate stage (at $pH = 3$) was included as a rinsing step between the

ammonium acetate and HNO₃ extractions and ensured that all exchangeable cations were extracted before moving on to the 1 mol.L⁻¹ nitric acid stage which is a strong non-selective extraction capable of dissolving many secondary mineral phases such allophane, iron and aluminium organometallic complexes, some part of hydrated iron and aluminium oxides, clay minerals and readily weathered primary minerals (Nezat et al. 2007).

5.2.1. Sample analysis

Major element concentrations were measured by ICP-AES (AGILENT 7500 series). ^{44/40}Ca, ^{26/24}Mg and ^{41/39}K isotope ratios were measured by ICP-MS (Analytik Jena 820MS). Instrument optimization and methods are detailed in van der Heijden *et.al.* 2018 (van der Heijden et al. 2018). All samples were diluted or evaporated to the same concentration: 100 µg.L⁻¹ Mg, 100 µg.L⁻¹ Ca, and 200 µg.L⁻¹ K. Ammonium acetate was digested prior to isotopic analysis with 5 mL hydrogen peroxide (H₂O₂ 30%) after complete sample evaporation. Instrumental mass discrimination was corrected using the standard bracketing technique by measuring standards of known isotopic composition every 12 samples: the bracketing standards were selected to ensure that enrichment of each sample fell between two standards. The tracer detection limit was set at 10‰ for ²⁶Mg and ⁴⁴Ca and 20‰ for ⁴¹K (van der Heijden et al. 2018) . Tracer recovery was also considered below the detection limit when the sample elemental concentrations were too low to conduct isotope ratio analysis.

5.3. Calculation methodology

5.3.1. Calculation methodology

The isotopically exchangeable pool is in isotopic equilibrium with the soil solution. The quantification of this pool is thus based on the assumption that its isotopic composition is equal to that measured in the solution using (shown for Mg):

$$E_{Mg} = Mg_{label} \times \left(\frac{1}{\alpha_{solution}^{Mg}} - 1 \right) \quad (1)$$

Where E_{Mg} is the isotopically exchangeable pool (µg.g dry soil⁻¹), Mg_{label} is the amount of isotopically enriched Mg added into the system (µg.g dry soil⁻¹) and $\alpha_{solution}^{Mg}$ is the fraction of Mg in the solution originating from the initial tracing solution, calculated as:

$$\alpha_{solution}^{Mg} = \frac{(\%^{26}Mg)_{solution} - (\%^{26}Mg)_{nat}}{(\%^{26}Mg)_{label} - (\%^{26}Mg)_{nat}} \quad (2)$$

Where $(\%^{26}\text{Mg})_{\text{solution}}$ is the ^{26}Mg atomic abundance in the solution, $(\%^{26}\text{Mg})_{\text{nat}}$ is the natural ^{26}Mg atomic abundance, and $(\%^{26}\text{Mg})_{\text{label}}$ is the ^{26}Mg atomic abundance of the initial tracing solution.

The relative distribution of the stable isotope tracers in the different extracted pools of the soil was calculated as the amount of Ca, Mg and K originating from the tracing solution (tracer recovery) in each pool divided by the sum of tracer recovered in all three extractions, and quantifies the relative contribution of each extracted soil pool (i.e. $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ and HNO_3) to the isotopically exchangeable pool of Ca, Mg and K

The isotopically exchangeable fraction of each extracted soil pool (the proportion of each pool that is isotopically exchangeable) was calculated by assuming that its isotopic composition is equal to that of the solution:

$$\alpha_{\text{pool}}^{\text{IE Mg}} = \frac{(\%^{26}\text{Mg})_{\text{pool}} - (\%^{26}\text{Mg})_{\text{nat}}}{(\%^{26}\text{Mg})_{\text{solution}} - (\%^{26}\text{Mg})_{\text{nat}}} \quad (3)$$

Where $(\%^{26}\text{Mg})_{\text{pool}}$ is the ^{26}Mg atomic abundance in the extracted pool and $(\%^{26}\text{Mg})_{\text{solution}}$ the fraction of Mg in the solution originating from the initial enriched tracing solution at the last time step of the isotopic dilution experiment (i.e. 48h).

5.3.2. Sample validation

Because isotopically enriched samples are sensitive to contamination; the isotopic dilution results for each soil sample were verified and samples were excluded from the dataset according to the following criteria.

- E_{Ca} , E_{Mg} and E_{K} data. Samples displaying missing or contaminated data for one or more time steps during the isotopic dilution experiment were excluded.
- Soil extraction data. Samples were excluded if one or more of the 3 extractions (i.e. $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ and HNO_3) was missing or if the cumulated tracer recovery in the whole system (soil+solution) was above 120%.

After data validation, the E_{Ca} , E_{Mg} and E_K dataset was composed of 83 samples for Ca (22 sites), 90 samples for Mg (24 sites), and 114 samples for K (24 sites) over a global dataset of 143 samples. The soil extraction dataset was composed of 119 samples for Ca (26 sites), 93 samples for Mg (23 sites), and 122 samples for K (25 sites).

5.3.3. Statistical methods

Statistical analyses were computed using R version 3.6.1 (R Core Team 2019) (<http://www.r-project.org/>)

The difference between E_x and $Exch_x$ were tested over the entire dataset with a non-parametric Wilcoxon-Mann-Whitney signed rank test for Ca, Mg and K. E_x and $Exch_x$ normal distribution was tested with a Shapiro-Wilk test and homoscedasticity was tested with a Levene test. Homoscedasticity was met for Ca and K but not for Mg (p-value < 0.05).

The repeatability of E_x measurements was estimated by replicating (2) 55 samples and the $E_x:Exch_x$ ratio was calculated for each replicate. The mean relative error for this replicated dataset was 16%, 14% and 8% for Ca, Mg and K, respectively. A sample was defined as significantly greater than $Exch_x$ if $E_x:Exch_x$ ratio was greater than the respective mean relative error (*i.e.* if $E_x:Exch_x$ greater than 1.16 for Ca, 1.14 for Mg and 1.08 for K).

Correlations between the different variables of the dataset were tested with a Spearman correlation test. Only statistically significant correlations are presented.

Acknowledgements

This study was financed by the Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME), the Région Lorraine and the Office National des Forêts (ONF). We also kindly thank the ONF for providing data and archived soil samples from the Renecofor ICP Forests network.

The UR-1138 INRAE –Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers is supported by a grant overseen by the French National Research Agency (ANR) as part of the "Investissements

d'Avenir" program (ANR-11-LABX-0002-01, Lab of Excellence ARBRE). We thank all who contributed with data to this study: J. C. R. Almeida, E. Dambrine, A. El Gh'Mari, A. Ezzaïm, J. Fichter, J.L.M. Gonçalves, V. Maquere, R. Marques, L. Mareschal, D. Mohamed Ahamed, J. Ranger, M.-P. Turpault, A. Versini and others. We kindly thank Benoit Pollier for his support conducting experimental analysis. We also thank the 3 anonymous reviewers who helped improve this manuscript

Reference

- Achat DL, Deleuze C, Landmann G, et al (2015) Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth - A meta-analysis. *For. Ecol. Manage.* 348:124–141.
- André JP, Pijarowski L (1977) Cation exchange properties of Sphagnumpeat: Exchange between two cations and protons. *J Soil Sci* 28:573–584. doi: 10.1111/j.1365-2389.1977.tb02265.x
- Badeau V, Dambrine E, Walter C (1999) Propriétés des sols forestiers français : Résultats du premier inventaire systématique.
- Bailey SW, Horsley SB, Long RP (2005) Thirty Years of Change in Forest Soils of the Allegheny Plateau, Pennsylvania. *Soil Sci Soc Am J* 69:681–690. doi: 10.2136/sssaj2004.0057
- Blume JM, Smith D (1954) Determination of exchangeable calcium and cation-exchange capacity by equilibration with Ca-45. *Soil Sci* 77:9–18.
- Bormann F., Likens G. (1967) Nutrient Cycling. *Science* (80-) 155:424–429.
- Casetou-Gustafson S, Grip H, Hillier S, et al (2020) Current, steady-state and historical weathering rates of base cations at two forest sites in northern and southern Sweden: A comparison of three methods. *Biogeosciences* 17:281–304. doi: <https://doi.org/10.5194/bg-17-281-2020>
- Clarholm M, Skjellberg U, Rosling A (2015) Organic acid induced release of nutrients from metal-stabilized soil organic matter - The unbutton model. *Soil Biol. Biochem.* 84:168–176.
- Collignon C, Ranger J, Turpault MP (2012) Seasonal dynamics of Al- and Fe-bearing secondary minerals in an acid forest soil: influence of Norway spruce roots (*Picea abies* (L.) Karst.). *Eur J Soil Sci* 63:592–602. doi: 10.1111/j.1365-2389.2012.01470.x
- De Oliveira Garcia W, Amann T, Hartmann J (2018) Increasing biomass demand enlarges negative forest nutrient budget areas in wood export regions. *Sci Rep* 8:1–7. doi: 10.1038/s41598-018-22728-5
- Ebelhar SA (2008) Labile pool. In: Chesworth W (ed) *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Dordrecht, pp 425–426
- Falk Øgaard A, Krogstad T (2005) Release of interlayer potassium in Norwegian grassland soils. *J Plant Nutr Soil Sci* 168:80–88. doi: 10.1002/jpln.200421454
- Fardeau JC, Hétier JM, Jappe J (1979) Potassium assimilable du sol : identification au comportement des ions isotopiquement diluables. *CR AcadSci* 288:1039–1042.

- Graham ER, Fox RL (1971) Tropical soil potassium as related to labile pool and calcium exchange equilibria Calcium Soil analysis. *Soil Sci* 3:318–322.
- Grove JH, Sumner ME, Syers JK (1981) Effect of Lime on Exchangeable Magnesium in Variable Surface Charge Soils. *Soil Sci Soc Am J* 45:497–500. doi: 10.2136/sssaj1981.03615995004500030011x
- Hall SJ, Huang W (2017) Iron reduction: a mechanism for dynamic cycling of occluded cations in tropical forest soils? *Biogeochemistry* 136:91–102. doi: 10.1007/s10533-017-0383-0
- Hamon RE, Bertrand I, McLaughlin MJ (2002) Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry. *Aust J Soil Res* 40:1371–1381.
- Hansson K, Laclau JP, Saint-André L, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 1: Common soil chemical analyses were poor predictors of stand productivity across a wide range of acidic forest soils. *For Ecol Manage* 461:117843. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117843
- Hedin LO, Granat L, Likens GE, et al (1994) Steep declines in atmospheric base cations in regions of Europe and North America. *Nature* 367:351–354.
- Hedin LO, Likens GE (1996) Atmospheric Dust and Acid Rain. *Sci Am* 275:88–92. doi: 10.1038/scientificamerican1296-88
- Hinsinger P, Jaillard B (1993) Root-induced release of interlayer potassium and vermiculitization of phlogopite as related to potassium depletion in the rhizosphere of ryegrass. *J Soil Sci* 44:525–534. doi: 10.1111/j.1365-2389.1993.tb00474.x
- Johnson J, Graf Pannatier E, Carnicelli S, et al (2018) The response of soil solution chemistry in European forests to decreasing acid deposition. *Glob Chang Biol* 24:3603–3619. doi: 10.1111/gcb.14156
- Jonard M, Fürst A, Verstraeten A, et al (2015) Tree mineral nutrition is deteriorating in Europe. *Glob Chang Biol* 21:418–430. doi: 10.1111/gcb.12657
- Jonard M, Legout A, Nicolas M, et al (2012) Deterioration of Norway spruce vitality despite a sharp decline in acid deposition: A long-term integrated perspective. *Glob Chang Biol* 18:711–725. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02550.x
- Kinniburgh DG, Jackson ML, Syers JK (1976) Adsorption of Alkaline Earth, Transition, and Heavy Metal Cations by Hydrous Oxide Gels of Iron and Aluminum. *Soil Sci Soc Am J* 40:796–799. doi: 10.2136/sssaj1976.03615995004000050047x
- Kosmulski M (2009) Compilation of PZC and IEP of sparingly soluble metal oxides and hydroxides from literature. *Adv Colloid Interface Sci* 152:14–25. doi: 10.1016/j.cis.2009.08.003
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2014) Chemical fertility of forest soils : basic concepts. *Rev For Française LXVI*:21–32.
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 2: Towards redefining the concept by untangling the role of the different components of biogeochemical cycling. *For Ecol Manage* 461:117844. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117844
- Likens GE, Driscoll CT, Buso DC, et al (1998) The biogeochemistry of calcium at Hubbard Brook. *Biogeochemistry* 41:89–173.
- Löfgren S, Ågren A, Gustafsson JP, et al (2017) Impact of whole-tree harvest on soil and stream water acidity in southern Sweden based on HD-MINTEQ simulations and pH-sensitivity. *For Ecol Manage* 383:49–60. doi: 10.1016/j.foreco.2016.07.018

- Lövblad G, Persson C, Roos E (2000) Deposition of Base Cations in Sweden. Stockholm - Sweden
- Lucash MS, Yanai RD, Blum JD, Park BB (2012) Foliar Nutrient Concentrations Related to Soil Sources Across a Range of Sites in the Northeastern United States Citation Details. *Soil Sci Soc Am J* 76:674–683.
- Mareschal L (2008) Effet des substitutions d'essences forestières sur l'évolution des sols et de leur minéralogie : bilan après 28 ans dans le site expérimental de Breuil (Morvan). Henri Poincaré, Nancy I
- Marschner H (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd edn. Academic Press, London
- Masozera C, Bouyer S (1971) Potassium et calcium labiles dans quelques types de sols tropicaux. In: Sur l'emploi des radioisotopes et des rayonnements dans la recherche sur les relations sol-plante. Vienne, p 12
- Meyer D, Jungk A (1993) A new approach to quantify the utilization of non-exchangeable soil potassium by plants. *Plant Soil* 149:235–243. doi: 10.1007/BF00016614
- Moritsuka N, Yanai J, Kosaki T (2004) Possible processes releasing nonexchangeable potassium from the rhizosphere of maize. *Plant Soil* 258:261–268. doi: 10.1023/B:PLSO.0000016556.79278.7f
- Myers JA, McLean EO, Bigham JM (1988) Reductions in Exchangeable Magnesium with Liming of Acid Ohio Soils. *Soil Sci Soc Am J* 52:131–136. doi: 10.2136/sssaj1988.03615995005200010023x
- Newbould P, Russell RS (1963) Isotopic equilibration of calcium-45 with labile soil calcium. *Plant Soil* 18:239–257. doi: 10.1007/BF01347878
- Nezat CA, Blum JD, Yanai RD, Hamburg SP (2007) A sequential extraction to determine the distribution of apatite in granitoid soil mineral pools with application to weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, NH, USA. *Appl geochemistry* 22:2406–2421.
- Ponette Q (1997) Downward movement of dolomite, kieserite or a mixture of CaCO₃ and kieserite through the upper layers of an acid forest soil. *Water Air Soil Pollut* 95:353–379. doi: 10.1023/A:1026426132174
- Pradier C, Hinsinger P, Laclau JP, et al (2017) Rainfall reduction impacts rhizosphere biogeochemistry in eucalypts grown in a deep Ferralsol in Brazil. *Plant Soil* 414:339–354. doi: 10.1007/s11104-016-3107-7
- R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.r-project.org/>.
- Ranger J, Turpault MP (1999) Input–output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management. *For Ecol Manage* 122:139–154. doi: 10.1016/S0378-1127(99)00038-9
- Reeve NG, Sumner ME (1969) Determination of exchangeable calcium in soils by isotopic dilution. *Agrochimica* 1:13–18. doi: ISSN : 0302-7112
- Reuss JO, Johnson DW (1986) Soil-Solution Interactions. In: Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters. Springer-Verlag New York, pp 33–54
- Richardson JB, Petrenko CL, Friedland AJ (2017) Base cations and micronutrients in forest soils along three clear-cut chronosequences in the northeastern United States. *Nutr Cycl Agroecosystems* 109:161–179. doi: 10.1007/s10705-017-9876-4
- Rosenstock NP, Stendahl J, van der Heijden G, et al (2019) Base cations in the soil bank: non-exchangeable pools may sustain centuries of net loss to forestry and leaching. *SOIL* 5:351–366. doi: 10.5194/soil-5-351-2019

- Ross DS, Matschonat G, Skjellberg U (2008) Cation exchange in forest soils: The need for a new perspective. *Eur J Soil Sci* 59:1141–1159. doi: 10.1111/j.1365-2389.2008.01069.x
- Rowley MC, Grand S, Verrecchia ÉP (2018) Calcium-mediated stabilisation of soil organic carbon. *Biogeochemistry* 137:27–49. doi: 10.1007/s10533-017-0410-1
- Salmon RC (1964) Cation exchange reactions. *J Soil Sci* 15:273–283. doi: 10.1111/j.1365-2389.1964.tb02225.x
- Schwertmann U, Fechter H (1982) The point of zero charge of natural and synthetic ferrihydrites and its relation to adsorbed silicate. *Clay Miner* 17:471–476. doi: 10.1180/claymin.1982.017.4.10
- Simpson AJ, Kingery WL, Hayes MH, et al (2002) Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89:84–88. doi: 10.1007/s00114-001-0293-8
- Smeck NE, Saif HT, Bigham JM (1994) Formation of a Transient Magnesium-Aluminum Double Hydroxide in Soils of Southeastern Ohio. *Soil Sci Soc Am J* 58:470–476. doi: 10.2136/sssaj1994.03615995005800020032x
- Sowers TD, Stuckey JW, Sparks DL (2018) The synergistic effect of calcium on organic carbon sequestration to ferrihydrite. *Geochem Trans* 19:4. doi: 10.1186/s12932-018-0049-4
- Sparks DL (2003) Inorganic Soil Components. In: Sparks DL (ed) *Environmental Soil Chemistry*, Second Edi. Academic Press, pp 43–73
- Sparks DL (1987) Potassium Dynamics in Soils. In: Stewart BA (ed) *Advances in Soil Science*, Advance in. Springer, New York, NY, pp 1–63
- Talkner U, Riek W, Dammann I, et al (2019) Nutritional Status of Major Forest Tree Species in Germany. In: Wellbrock N, Bolte A (eds) *Status and Dynamics of Forests in Germany : Results of the National Forest Monitoring*. Springer International Publishing, pp 261–293
- Tendille C, Grenier de Ruere J, Barbier G (1956) Echanges isotopiques du potassium peu mobile des sols. *CR AcadSci* 243:87–89.
- Thiffault E, Hannam KD, Paré D, et al (2011) Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environ Rev* 19:278–309. doi: 10.1139/a11-009
- van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150
- van der Heijden G, Legout A, Mareschal L, et al (2017) Filling the gap in Ca input-output budgets in base-poor forest ecosystems: The contribution of non-crystalline phases evidenced by stable isotopic dilution. *Geochim Cosmochim Acta* 209:135–148. doi: 10.1016/j.gca.2017.04.018
- van der Heijden G, Legout A, Nicolas M, et al (2011) Long-term sustainability of forest ecosystems on sandstone in the Vosges Mountains (France) facing atmospheric deposition and silvicultural change. *For Ecol Manage* 261:730–740. doi: 10.1016/j.foreco.2010.12.003
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2013) Tracing and modeling preferential flow in a forest soil - Potential impact on nutrient leaching. *Geoderma* 195–196:12–22. doi: 10.1016/j.geoderma.2012.11.004
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2014) The dynamics of calcium and magnesium inputs by throughfall in a forest ecosystem on base poor soil are very slow and conservative: Evidence from an isotopic tracing experiment (^{26}Mg and ^{44}Ca). *Biogeochemistry* 118:413–442. doi: 10.1007/s10533-013-9941-2

- van Reeuwijk LP, de Villiers JM (1968) Potassium Fixation by Amorphous Aluminosilica Gels. *Soil Sci Soc Am J* 32:238–240. doi: 10.2136/sssaj1968.03615995003200020023x
- van Sundert K, Radujković D, Cools N, et al (2020) Towards comparable assessment of the soil nutrient status across scales—Review and development of nutrient metrics. *Glob Chang Biol* 26:392–409. doi: 10.1111/gcb.14802
- York LM, Carminati A, Mooney SJ, et al (2016) The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *J Exp Bot* 67:3629–3643. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/erw108>

Additional information

Table IV-S1 supplementary. Metadata of the soil samples.

Site/network	Country	Localisation	Additional information	Number of plots	Sample ID	Species	Climatic zone	Number of layer per profile	Soil type (FAO)
AnaEE - Breuil-Chenue experimental site	France	N 47°18' E 4°5'	Douglas plot	5	DOU	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Temperate	5	Alumic cambisol
			Beech plot		HET	<i>Fagus sylvatica</i>			
			Oak plot		CHE	<i>Quercus petraea</i>			
			Spruce plot		EPI	<i>Picea abies</i>			
			Coppice plot		TSF	<i>Fagus sylvatica</i>			
SOERE - F-ORE-T - Fougères experimental site	France	N 48°23' W 1°8'		1	FOU III	<i>Fagus sylvatica</i>	Temperate	5	Dystric cambisol
IN-SYLVA-France - Douglas experimental network	France	N 49°9' E 0°4'	Montreui-sur-Auge	4	MsA	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Temperate	3	Eutric cambisol
		N 49°44' E 2°9'	Conty		CONTY			3	Eutric cambisol
		N 45°45' E 2°54'	Allagnat		ALL			2	Andosol
		N 47°4' E 3°36'	Montapas		MONT			5	Eutric pseudoluvisol
Renecofor - ICP-Forest level II	France	N 50°12' E 3°44'	First sampling campaign	1	C1 CHP59	<i>Quercus robur</i>	Temperate	5	Stagnic luvisol
		N 47°34' E 1°15'		1	C1 CHS41	<i>Quercus petraea</i>			Stagnic luvisol
		N 48°24' E 2°44'		1	C1 CPS77	<i>Quercus robur petraea</i>			Cambic podzol
		N 49°54' E 4°48'		1	C1 EPC08	<i>Picea abies</i>			Cambic podzol
		N 45°44' E 3°0'		1	C1 EPC63	<i>Picea abies</i>			Mollic andosol
		N 45°47' E 1°41'		1	C1 EPC87	<i>Picea abies</i>			Humic Cambisol

Site/network	Country	Localisation	Additional information	Number of plots	Sample ID	Species	Climatic zone	Number of layer per profile	Soil type (FAO)
Renecofofor - ICP-Forest level II	France	N 44°5' E 3°41'	First sampling campaign	1	C1 HET30	<i>Fagus sylvatica</i>	Temperate	5	Cambic podzol
		N 43°9' W 0°39'		1	C1 HET64	<i>Fagus sylvatica</i>			Eutric cambisol
		N 48°51' E 7°47'		1	C1 PS67a	<i>Pinus sylvestris</i>			Cambic podzol
		N 45°24' E 6°8'		1	C1 SP38	<i>Abies alba</i>			Dystric cambisol
		N 48°36' E 7°9'		1	C1 SP57	<i>Abies alba</i>			Dystric cambisol
AnaEE - Compaction experimental network	France	N 49°06' E 5°04'	Clermont en Argonne	1	Clermont	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Temperate	7	Neoluvisol
		N 48°29' E 6°42'	Azerailles	1	Azerailles				
Vauxrenard experimental site	France	N 46°30' E 4°38'		1	Vx	<i>Fagus sylvatica</i>	Temperate	5	Dystric cambisol
BioSoil - ICP forests level II	Sweden	N58°03' E12°01'		1	Gardsjon SE04	<i>Picea abies</i>	Boreal	4	Podzol
		N57°07' E14°33'		1	Aneboda SE14				
		N59°45' E14°54'		1	Kindla SE15				
		N63°51' E18°07'		1	Gammtratten SE16				
LTER - Luqillo Experimental Forest	Puerto Rico	N 18°19' W 65°45'	Bisley Ridge	1	PR_B_R	<i>Dacryodes excelsa</i>	Tropical	2	Ferralsol
			Bisley Slope	1	PR_B_S				
			Bisley Valley	1	PR_B_V				
IN-SYLVA- France - Itatinga MORPHINE network	Brazil	S 22°58' W 48°44'	Itatinga	1	ITATINGA	<i>Eucalyptus spp.</i>	Tropical	5	Ferralsol

Table IV-S2 supplementary. Chemical analysis used for the soil samples from the conventional dataset.

Chemical analyses	Method/reagent	Targeted soil phases	reference
Carbon content (%)	Dry combustion	Soil carbon	Walkey, A. & Black I.A., 1934. An examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter, and a proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. Soil Science, 37(1): 29-38 Anne, P. An. Agro, 1945, p.165
	Wet combustion		
Nitrogen content (%)	Dry combustion	Soil nitrogen	Kjeldahl, J.: Rledd. Carlsberg Lab. 2,1 (1883); Z. anal. Chem. 22, 366 (1883).
	Wet combustion		
Exchangeable cations (cmol_c.kg⁻¹)			
Calcium	NH ₄ OAc (1 mol.L ⁻¹), BaCl ₂ , (0.1 mol.L ⁻¹), KCl (1 mol.L ⁻¹)	Exchangeable	
Magnesium	NH ₄ OAc (1 mol.L ⁻¹), BaCl ₂ , (0.1 mol.L ⁻¹), KCl (1 mol.L ⁻¹)	Exchangeable	
Potassium	NH ₄ OAc (1 mol.L ⁻¹), BaCl ₂ , (0.1 mol.L ⁻¹), NH ₄ Cl (1 mol.L ⁻¹)	Exchangeable	
Aluminium	NH ₄ OAc (1 mol.L ⁻¹), BaCl ₂ , (0.1 mol.L ⁻¹), KCl (1 mol.L ⁻¹)	Exchangeable	
Iron	NH ₄ OAc (1 mol.L ⁻¹), BaCl ₂ , (0.1 mol.L ⁻¹), KCl (1 mol.L ⁻¹)	Exchangeable	
Specific soil phases (g.100g⁻¹)			
Tamm extractible K	Oxalate reagent (0.2 mol.L ⁻¹) (oxalic acid + ammonium oxalate)	Complexing reagent dissolving amorphous Al and Fe phases and extracts free and complexed form of Fe and Al	Tamm, O., 1922. Um bestämning av de oorganiska komponenterna i markens gelcomplex. Medd. Statens Skogsförsökst 19, 385-404.
Tamura extractible Fe	Na tricitrate (1 mol.L ⁻¹) pH 7.3	Strong complexing reagent used to extract amorphous as well as poorly crystallized (hydro)oxides of Al and Fe	Tamura, T., 1958. Identification of clay minerals from acid soils. Journal of Soil Science 9, 141-147.
Pyrophosphate extractible Fe	Na ₄ P ₂ O ₇ (0.1 mol.L ⁻¹)	Iron bond to organic matter	Mc Keague & Shuppli, 1982

Table IV-S3 supplementary. Individual conventional exchangeable pools data ($Exch_x$) and measured isotopically exchangeable pools (E_x) for Ca, Mg and K expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Sample ID	Layer (cm)	Conventional exchangeable pool ($Exch_x$) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			Isotopically exchangeable pool (E_x) ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		
		$Exch_{Ca}$	$Exch_{Mg}$	$Exch_K$	E_{Ca}	E_{Mg}	E_K
Azerailles	0-10	434.84	54.48	148.16	464.51	55.65	162.20
Azerailles	>100	1113.50	402.65	215.82	906.63	411.17	177.85
Azerailles	10-20	89.34	14.72	52.24	145.01	19.65	97.99
Azerailles	20-30	91.39	16.21	49.26	NA	16.82	83.25
Azerailles	30-60	466.22	99.09	98.81	NA	89.03	127.39
Azerailles	60-80	814.92	324.47	152.09	1229.42	256.32	176.02
Azerailles	80-100	1191.65	408.73	184.80	914.89	390.14	166.75
CHE	0-5	88.67	33.72	159.32	97.67	39.32	166.02
CHE	5-15	12.56	9.29	95.47	37.44	12.64	113.45
CHE	15-25	3.01	3.34	60.60	17.95	4.65	79.24
CHE	25-40	4.01	2.43	47.90	NA	3.12	66.97
CHE	40-70	2.00	1.22	46.57	12.30	3.18	68.20
DOU	0-5	130.25	24.31	103.61	133.43	27.30	125.76
DOU	5-15	24.27	14.19	71.58	51.26	15.99	106.25
DOU	15-25	5.51	6.08	43.99	NA	7.26	73.65
DOU	25-40	2.00	2.73	34.21	NA	4.18	59.50
DOU	40-70	2.49	2.73	32.05	NA	4.09	58.11
EPI	0-5	30.56	19.14	81.13	50.41	20.69	100.15
EPI	5-15	12.97	8.82	49.80	33.23	9.75	73.55
EPI	15-25	5.51	4.25	41.05	20.06	5.20	56.08
EPI	25-40	6.51	3.34	47.90	27.12	4.38	69.25
EPI	40-70	6.26	2.11	46.54	NA	3.36	64.91
HET	0-5	121.24	28.25	129.02	127.64	31.34	152.27
HET	5-15	17.13	11.17	70.80	44.92	13.83	103.28
HET	15-25	3.01	4.56	38.12	17.06	4.31	51.21
HET	25-40	9.02	4.56	27.37	12.38	3.07	45.15
HET	40-70	4.44	2.51	28.85	13.18	2.86	48.95
TSF	0-5	23.04	29.47	139.78	47.69	32.81	125.61
TSF	5-15	4.23	9.89	57.29	18.03	10.32	69.52
TSF	15-25	2.00	5.16	38.12	NA	5.56	39.98
TSF	25-40	2.00	2.03	26.08	10.76	3.53	29.94
TSF	40-70	2.00	2.03	30.65	NA	NA	NA
Clermont	0-10	130.96	17.14	56.78	154.32	18.47	90.14
Clermont	>110	1557.03	411.56	122.90	2676.53	572.78	160.96
Clermont	10-20	38.93	7.70	30.45	51.29	6.55	53.92
Clermont	20-30	40.76	9.80	41.25	53.17	9.12	74.84
Clermont	30-60	214.77	84.96	92.21	240.81	97.00	128.69
Clermont	60-75	801.87	307.55	141.26	1075.85	438.85	179.15
Clermont	75-90	1078.77	373.08	136.45	NA	633.98	179.12

Sample ID	Layer (cm)	Conventional exchangeable pool (Exch _x) (µg.g ⁻¹)			Isotopically exchangeable pool (E _x) (µg.g ⁻¹)		
		Exch _{Ca}	Exch _{Mg}	Exch _K	E _{Ca}	E _{Mg}	E _K
DOU_CONTY	0-18	587.32	63.14	193.18	NA	NA	NA
DOU_CONTY	18-47	1271.50	145.34	111.62	NA	NA	NA
DOU_CONTY	47-68	2235.08	188.85	178.61	NA	207.89	169.52
DOU_MONT	0-14	403.17	38.35	157.78	444.27	46.17	145.76
DOU_MONT	14-61	167.71	22.79	64.58	NA	29.14	93.18
DOU_MONT	60-80	615.57	126.32	94.44	NA	142.55	120.28
DOU_MONT	61-68	535.08	126.09	81.15	NA	NA	NA
DOU_MONT	80-100	815.79	153.09	127.89	NA	NA	NA
DOU_MsA	0-19	1490.89	137.12	189.12	NA	NA	NA
DOU_MsA	19-43	2803.31	100.30	262.79	NA	NA	NA
DOU_MsA	43-65	3226.54	192.68	208.62	NA	NA	NA
FOU III	0-5	79.15	43.57	121.99	81.50	37.59	111.33
FOU III	5-15	53.60	13.43	62.56	24.31	NA	74.37
FOU III	17-32	10.42	2.75	30.11	8.80	NA	17.03
FOU III	35-50	17.17	1.82	32.32	NA	NA	15.33
FOU III	55-70	10.02	7.13	49.92	NA	NA	70.36
ITATINGA	0-5	4.57	3.79	5.02	11.41	NA	NA
ITATINGA	5-15	2.00	1.37	3.91	4.65	NA	NA
ITATINGA	15-50	2.00	1.22	3.91	2.58	NA	NA
ITATINGA	50-100	2.00	1.22	3.91	3.25	0.83	NA
ITATINGA	100-200	2.00	1.22	4.08	3.28	2.12	NA
PR_Bisley_R	0-10	NA	NA	NA	NA	543.30	74.57
PR_Bisley_R	10-20	NA	NA	NA	NA	522.60	79.92
PR_Bisley_S	0-10	NA	NA	NA	286.34	248.62	124.53
PR_Bisley_S	10-20	NA	NA	NA	112.80	149.95	61.33
PR_Bisley_V	0-10	NA	NA	NA	NA	234.40	127.02
PR_Bisley_V	10-20	NA	NA	NA	68.15	125.79	76.96
C1 CHP59	0-10	267.52	51.49	68.88	NA	65.36	111.89
C1 CHP59	10-20	239.27	39.13	39.41	NA	63.31	NA
C1 CHP59	20-40	575.52	87.72	35.81	NA	100.86	75.39
C1 CHP59	40-80	1716.84	276.17	58.65	NA	NA	NA
C1 CHS41	0-10	190.37	50.59	68.23	197.48	61.97	104.24
C1 CHS41	10-20	24.45	14.17	26.82	30.97	16.43	46.25
C1 CHS41	20-40	24.05	33.42	28.46	34.28	43.29	68.08
C1 CHS41	40-80	235.01	221.02	47.90	NA	NA	NA
C1 CHS41	80-100	790.04	560.84	74.29	799.17	NA	NA
C1 CPS77	0-10	189.50	16.89	32.72	NA	17.28	42.43
C1 CPS77	10-20	22.92	3.45	10.17	43.11	NA	11.54
C1 CPS77	20-40	54.15	5.03	7.74	NA	NA	NA
C1 CPS77	40-80	101.55	7.93	10.75	NA	NA	11.86
C1 CPS77	80-100	635.24	47.70	30.30	309.27	NA	22.61
C1 EPC08	0-10	29.96	14.20	39.16	30.57	19.06	80.38
C1 EPC08	10-20	18.44	4.18	18.61	14.69	NA	36.62
C1 EPC08	20-40	16.83	2.33	15.72	6.84	NA	28.03
C1 EPC08	40-80	10.02	1.22	12.71	16.60	2.27	31.50
C1 EPC08	80-100	10.02	1.22	15.64	NA	1.89	31.29

Sample ID	Layer (cm)	Conventional exchangeable pool (Exch _x) (µg.g ⁻¹)			Isotopically exchangeable pool (E _x) (µg.g ⁻¹)		
		Exch _{Ca}	Exch _{Mg}	Exch _K	E _{Ca}	E _{Mg}	E _K
C1 EPC63	0-10	479.60	81.54	81.71	NA	159.52	135.34
C1 EPC63	10-20	324.23	38.09	35.19	358.41	77.33	82.18
C1 EPC63	20-40	452.88	50.97	25.10	510.23	118.10	73.98
C1 EPC63	40-80	395.77	43.75	11.73	410.80	44.28	28.39
C1 EPC63	80-100	322.63	34.63	23.46	289.74	31.17	50.49
C1 EPC87	0-10	45.92	19.81	50.96	45.63	22.39	103.93
C1 EPC87	10-20	19.64	10.09	27.84	NA	NA	62.13
C1 EPC87	20-40	17.23	6.10	16.03	NA	7.14	26.15
C1 EPC87	40-80	27.05	1.82	6.84	NA	NA	13.53
C1 EPC87	80-100	365.71	3.34	6.84	NA	NA	12.58
C1 HET30	0-10	237.46	39.19	66.99	220.89	53.67	112.97
C1 HET30	10-20	79.76	18.88	40.19	NA	29.47	92.25
C1 HET30	20-40	44.49	9.53	21.58	48.63	NA	57.03
C1 HET30	40-80	102.20	3.04	13.68	NA	NA	26.03
C1 HET30	80-100	10.52	2.13	11.73	NA	NA	31.30
C1 HET64	0-10	879.71	113.14	71.81	929.40	118.26	111.91
C1 HET64	10-20	599.17	85.46	44.65	NA	95.31	86.91
C1 HET64	20-40	637.64	89.86	35.42	NA	99.28	77.50
C1 HET64	40-80	1554.02	79.90	37.14	1910.33	NA	79.78
C1 HET64	80-100	2338.55	112.41	41.05	2628.24	NA	NA
C1 PS67a	0-10	30.29	6.55	26.44	36.16	NA	54.80
C1 PS67a	10-20	16.43	2.26	12.43	9.69	NA	14.54
C1 PS67a	20-40	19.24	1.09	5.55	5.36	NA	8.00
C1 PS67a	40-80	10.02	1.22	4.59	NA	NA	NA
C1 PS67a	80-100	10.02	1.22	3.91	NA	NA	NA
C1 SP38	0-10	166.79	20.84	32.59	146.74	NA	38.72
C1 SP38	10-20	61.72	9.48	25.34	67.64	NA	32.74
C1 SP38	20-40	56.51	7.39	17.83	56.76	NA	30.31
C1 SP38	40-80	25.55	4.56	14.66	37.66	5.81	30.64
C1 SP38	80-100	53.60	3.65	12.71	23.85	4.54	27.79
C1 SP57	0-10	75.58	8.30	25.88	89.52	10.37	30.14
C1 SP57	10-20	48.49	3.40	12.59	NA	NA	14.53
C1 SP57	20-40	38.07	1.73	7.35	NA	NA	11.38
C1 SP57	40-80	11.47	1.37	5.86	10.71	1.94	13.84
C1 SP57	80-100	16.53	1.22	10.75	NA	1.81	16.28
Aneboda SE14	0-10	21.43	6.23	21.63	54.50	7.43	25.72
Aneboda SE14	10-20	9.51	3.25	15.81	27.64	4.11	16.45
Aneboda SE14	20-40	4.85	1.01	3.56	25.97	2.37	9.05
Aneboda SE14	40-80	4.20	1.13	3.63	46.64	2.43	8.84
Gammtratten SE16	0-10	29.25	3.31	10.40	63.52	5.36	15.32
Gammtratten SE16	10-20	8.66	1.22	3.46	46.64	2.41	10.95
Gammtratten SE16	20-40	4.15	0.69	2.38	NA	1.79	9.49
Gammtratten SE16	40-80	4.82	0.68	3.49	153.11	1.58	7.80
Gardsjon SE04	0-10	154.00	55.45	48.81	154.04	51.49	63.78
Gardsjon SE04	10-20	19.68	6.46	11.15	52.93	NA	27.19
Gardsjon SE04	20-40	18.18	4.45	16.78	49.02	8.00	24.63
Gardsjon SE04	40-80	17.31	4.84	13.35	47.79	10.55	38.33

Sample ID	Layer (cm)	Conventional exchangeable pool (Exch _x) (µg·g ⁻¹)			Isotopically exchangeable pool (E _x) (µg·g ⁻¹)		
		Exch _{Ca}	Exch _{Mg}	Exch _K	E _{Ca}	E _{Mg}	E _K
Gardsjon SE04	0-10	154.00	55.45	48.81	154.04	51.49	63.78
Gardsjon SE04	10-20	19.68	6.46	11.15	52.93	NA	27.19
Gardsjon SE04	20-40	18.18	4.45	16.78	49.02	8.00	24.63
Gardsjon SE04	40-80	17.31	4.84	13.35	47.79	10.55	38.33
Kindla SE15	0-10	8.17	3.82	14.12	30.31	5.45	15.49
Kindla SE15	10-20	6.15	2.66	9.19	25.11	4.49	16.63
Kindla SE15	20-40	3.58	1.18	5.25	NA	1.77	6.86
Kindla SE15	40-80	2.01	0.28	1.61	52.94	0.78	NA
Vx	0-5	441.00	60.56	186.46	322.23	62.60	185.52
Vx	5-15	65.58	12.93	127.28	NA	12.36	108.67
Vx	15-30	34.70	13.02	83.33	NA	NA	90.53
Vx	30-45	25.92	8.09	68.29	NA	NA	94.47
Vx	45-60	22.02	5.31	71.92	NA	NA	94.31

Table IV-S4 supplementary. Individual relative contribution of the extracted-pools (NH₄#1, NH₄#2 and HNO₃) of Ca, Mg and K to the isotopically exchangeable pools (E_x).

Sample ID	layer (cm)	Ca-extracted pools relative contributions (%)			Mg-extracted pools relative contributions (%)			K-extracted pools relative contributions (%)		
		NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃
Azerailles	0-10	78.6	12.7	8.7	76.3	4.1	19.6	91.0	7.0	2.0
Azerailles	10-20	86.3	11.9	1.8	NA	NA	NA	87.9	7.7	4.4
Azerailles	20-30	87.6	9.9	2.4	NA	NA	NA	86.0	7.8	6.2
Azerailles	30-60	72.9	23.5	3.6	79.0	21.0	<D.L.	72.4	22.2	5.4
Azerailles	60-80	68.8	29.2	2.0	57.6	33.6	8.8	61.9	35.9	2.2
Azerailles	80-100	67.9	31.7	0.5	NA	NA	NA	58.8	37.3	4.0
Azerailles	>100	56.6	37.4	6.0	NA	NA	NA	57.6	38.5	3.9
CHE	0-5	37.8	46.7	15.5	92.5	7.5	<D.L.	87.6	7.1	5.3
CHE	5-15	29.2	38.5	32.4	100.0	<D.L.	<D.L.	85.7	6.2	8.1
CHE	15-25	24.9	45.0	30.1	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.2	6.9	9.9
CHE	25-40	20.0	59.7	20.4	<D.L.	<D.L.	<D.L.	80.6	7.5	12.0
CHE	40-70	7.5	83.4	9.1	<D.L.	<D.L.	<D.L.	81.4	7.7	10.9
DOU	0-5	41.2	52.1	6.7	94.5	5.5	<D.L.	85.8	6.8	7.4
DOU	5-15	40.7	38.0	21.3	95.5	4.5	<D.L.	84.4	6.6	9.0
DOU	15-25	29.5	41.7	28.8	100.0	<D.L.	<D.L.	79.9	7.9	12.1
DOU	25-40	21.7	39.3	39.1	NA	NA	NA	78.7	8.0	13.2
DOU	40-70	8.2	86.0	5.8	NA	NA	NA	78.1	8.4	13.5
EPI	0-5	30.4	37.5	32.1	94.8	5.2	<D.L.	87.5	5.6	6.9
EPI	5-15	29.8	41.4	28.8	100.0	<D.L.	<D.L.	84.1	7.0	9.0
EPI	15-25	22.0	54.5	23.6	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.0	8.2	8.9
EPI	25-40	33.5	46.6	19.9	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.0	6.6	10.5
EPI	40-70	11.2	81.9	6.9	<D.L.	<D.L.	<D.L.	81.5	6.2	12.3
HET	0-5	38.4	52.5	9.1	93.7	6.3	<D.L.	85.6	7.2	7.2
HET	5-15	28.7	43.6	27.7	95.7	4.3	<D.L.	83.8	7.6	8.6
HET	15-25	19.1	58.0	22.9	NA	NA	NA	78.2	9.2	12.6
HET	25-40	36.4	43.4	20.2	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.4	6.9	9.8
HET	40-70	10.1	82.1	7.7	<D.L.	<D.L.	<D.L.	82.0	7.5	10.6
TSF	0-5	30.5	38.9	30.6	93.8	6.2	<D.L.	87.5	6.2	6.2
TSF	5-15	19.4	39.1	41.4	100.0	<D.L.	<D.L.	85.1	8.1	6.8
TSF	15-25	19.0	56.9	24.1	<D.L.	<D.L.	<D.L.	82.0	7.4	10.6
TSF	25-40	12.3	46.3	41.5	<D.L.	<D.L.	<D.L.	82.5	6.2	11.3
TSF	40-70	40.9	27.8	31.3	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.9	5.3	10.8
Clermont	0-10	84.1	14.1	1.8	94.6	5.4	<D.L.	83.1	9.9	7.0
Clermont	10-20	82.1	16.5	1.4	62.7	3.9	33.3	75.2	11.1	13.8
Clermont	20-30	90.0	8.5	1.4	100.0	<D.L.	<D.L.	79.1	8.3	12.6
Clermont	30-60	94.5	5.3	0.2	96.8	3.2	<D.L.	88.2	6.9	4.9
Clermont	60-75	95.5	4.3	0.2	96.1	3.9	<D.L.	89.7	6.9	3.4
Clermont	75-90	94.6	5.1	0.4	NA	NA	NA	90.6	6.7	2.7
Clermont	>110	95.5	4.5	<D.L.	NA	NA	NA	80.7	6.9	12.4

Sample ID	layer (cm)	Ca-extracted pools relative contributions (%)			Mg-extracted pools relative contributions (%)			K-extracted pools relative contributions (%)		
		NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃
DOU_ALL	0-12	66.8	12.4	20.8	NA	NA	NA	84.8	9.7	5.4
DOU_CONTY	0-18	84.5	11.8	3.7	94.7	5.3	<D.L.	87.8	7.6	4.6
DOU_CONTY	18-47	91.8	6.6	1.6	86.3	3.7	10.0	88.1	6.1	5.8
DOU_CONTY	47-68	89.7	9.1	1.2	80.4	6.3	13.3	88.7	7.8	3.5
DOU_MONT	0-14	90.7	6.6	2.7	95.1	4.9	<D.L.	90.5	6.6	2.9
DOU_MONT	14-61	89.1	8.8	2.1	96.6	3.4	<D.L.	88.6	6.7	4.7
DOU_MONT	60-80	87.5	11.5	1.0	90.2	9.8	<D.L.	85.5	11.5	3.1
DOU_MONT	61-68	93.5	5.8	0.8	95.5	4.5	<D.L.	89.6	6.5	3.9
DOU_MONT	80-100	83.7	15.8	0.5	83.4	16.6	<D.L.	79.1	17.9	3.0
DOU_MsA	0-19	80.3	9.5	10.2	81.4	5.1	13.5	91.0	6.5	2.5
DOU_MsA	19-43	NA	NA	NA	81.7	18.3	<D.L.	84.5	14.4	1.1
DOU_MsA	43-65	NA	NA	NA	92.7	7.3	<D.L.	90.3	7.8	1.9
FOU III	0-5	63.2	16.1	20.7	91.6	8.4	<D.L.	58.6	38.0	3.4
FOU III	5-15	65.0	18.9	16.1	NA	NA	NA	91.3	6.7	1.9
FOU III	17-32	59.1	18.5	22.4	NA	NA	NA	89.0	4.0	7.0
FOU III	35-50	65.6	19.6	14.8	NA	NA	NA	86.9	4.6	8.5
FOU III	55-70	87.7	10.5	1.8	NA	NA	NA	82.7	6.6	10.7
ITATINGA	0-5	65.7	19.1	15.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
ITATINGA	5-15	84.0	16.0	<D.L.	NA	NA	NA	100.0	<D.L.	<D.L.
ITATINGA	15-50	79.0	21.0	<D.L.	NA	NA	NA	100.0	<D.L.	<D.L.
ITATINGA	50-100	88.0	12.0	<D.L.	<D.L.	<D.L.	<D.L.	NA	NA	NA
ITATINGA	100-200	88.2	11.8	<D.L.	<D.L.	<D.L.	<D.L.	100.0	<D.L.	<D.L.
PR_Bisley_R	0-10	76.6	15.1	8.3	92.0	8.0	<D.L.	89.1	7.2	3.7
PR_Bisley_R	10-20	80.4	12.9	6.7	92.0	8.0	<D.L.	89.7	7.1	3.2
PR_Bisley_S	0-10	78.5	13.6	7.9	90.8	7.0	2.2	94.0	6.0	<D.L.
PR_Bisley_S	10-20	77.8	13.3	8.9	88.7	6.0	5.4	95.8	4.2	<D.L.
PR_Bisley_V	0-10	71.5	16.5	11.9	90.4	8.1	1.5	93.9	6.1	<D.L.
PR_Bisley_V	10-20	68.1	14.6	17.3	86.5	10.5	3.0	NA	NA	NA
C1 CHP59	0-10	77.4	15.9	6.7	93.8	6.2	<D.L.	89.8	6.2	4.1
C1 CHP59	10-20	84.5	10.7	4.8	95.3	4.7	<D.L.	89.2	5.9	4.9
C1 CHP59	20-40	89.4	8.1	2.5	95.7	4.3	<D.L.	88.6	5.4	5.9
C1 CHP59	40-80	NA	NA	NA	97.2	2.8	<D.L.	91.1	4.9	4.0
C1 CHS41	0-10	79.2	14.9	5.9	94.1	5.9	<D.L.	90.8	5.3	3.9
C1 CHS41	10-20	82.9	12.6	4.6	95.5	4.5	<D.L.	85.8	6.5	7.7
C1 CHS41	20-40	90.3	8.0	1.8	96.8	3.2	<D.L.	86.3	5.0	8.7
C1 CHS41	40-80	77.6	21.9	0.5	82.1	17.9	<D.L.	77.1	19.0	4.0
C1 CHS41	80-100	72.9	26.7	0.4	75.0	25.0	<D.L.	72.3	24.6	3.1
C1 CPS77	0-10	82.4	13.2	4.4	93.7	4.9	1.4	89.0	4.8	6.2
C1 CPS77	10-20	73.0	17.9	9.2	NA	NA	NA	88.9	<D.L.	11.1
C1 CPS77	20-40	77.9	15.8	6.3	NA	NA	NA	76.3	7.1	16.5
C1 CPS77	40-80	90.7	6.1	3.2	<D.L.	<D.L.	<D.L.	72.4	<D.L.	27.6
C1 CPS77	80-100	97.0	2.7	0.3	NA	NA	NA	87.0	2.6	10.5
C1 EPC08	0-10	53.5	15.8	30.7	87.9	8.5	3.5	85.3	8.5	6.1
C1 EPC08	10-20	55.1	9.0	35.9	NA	NA	NA	88.6	5.6	5.8
C1 EPC08	20-40	45.0	17.5	37.5	NA	NA	NA	85.6	8.3	6.1
C1 EPC08	40-80	60.9	23.0	16.2	<D.L.	<D.L.	<D.L.	82.9	10.4	6.8
C1 EPC08	80-100	78.6	16.1	5.3	100.0	<D.L.	<D.L.	83.0	10.4	6.6

Sample ID	layer (cm)	Ca-extracted pools relative contributions (%)			Mg-extracted pools relative contributions (%)			K-extracted pools relative contributions (%)		
		NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃
C1 EPC63	0-10	49.7	20.3	30.0	88.3	11.7	<D.L.	75.2	16.0	8.8
C1 EPC63	10-20	42.2	16.4	41.4	88.9	11.1	<D.L.	69.2	16.7	14.1
C1 EPC63	20-40	44.4	17.8	37.8	88.6	11.4	<D.L.	76.3	10.6	13.2
C1 EPC63	40-80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	83.1	5.3	11.6
C1 EPC63	80-100	NA	NA	NA	NA	NA	NA	72.0	8.7	19.3
C1 EPC87	0-10	51.9	17.6	30.6	89.5	10.5	<D.L.	86.8	9.1	4.1
C1 EPC87	10-20	46.6	14.9	38.5	NA	NA	NA	82.8	10.4	6.8
C1 EPC87	20-40	43.1	14.5	42.4	81.8	8.9	9.3	83.7	8.9	7.4
C1 EPC87	40-80	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	86.7	5.8	7.5
C1 EPC87	80-100	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	84.3	5.0	10.7
C1 HET30	0-10	72.9	16.3	10.7	91.9	8.1	<D.L.	88.3	8.7	2.9
C1 HET30	10-20	57.9	18.1	24.0	90.4	9.6	<D.L.	85.5	9.3	5.2
C1 HET30	20-40	41.9	18.3	39.9	NA	NA	NA	84.5	9.2	6.2
C1 HET30	40-80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	79.5	8.0	12.4
C1 HET30	80-100	32.1	23.4	44.5	84.3	15.7	<D.L.	78.3	7.9	13.8
C1 HET64	0-10	87.1	9.8	3.0	94.5	5.5	<D.L.	89.8	6.5	3.7
C1 HET64	10-20	89.0	9.3	1.8	93.5	6.5	<D.L.	87.7	7.2	5.2
C1 HET64	20-40	90.3	8.5	1.2	93.7	6.3	<D.L.	86.9	7.1	6.0
C1 HET64	40-80	88.3	10.0	1.7	91.2	8.8	<D.L.	83.7	9.5	6.8
C1 HET64	80-100	75.2	23.1	1.6	74.9	25.1	<D.L.	70.1	23.5	6.4
C1 PS67a	0-10	62.6	16.0	21.4	NA	NA	NA	91.0	3.3	5.7
C1 PS67a	10-20	57.9	14.8	27.3	NA	NA	NA	90.4	1.9	7.7
C1 PS67a	20-40	51.3	15.8	32.9	NA	NA	NA	NA	NA	NA
C1 PS67a	40-80	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	NA	NA	NA
C1 PS67a	80-100	<D.L.	<D.L.	<D.L.	<D.L.	<D.L.	<D.L.	NA	NA	NA
C1 SP38	0-10	70.1	15.8	14.1	93.2	6.8	<D.L.	88.8	5.9	5.3
C1 SP38	10-20	66.9	18.5	14.6	NA	NA	NA	88.9	4.9	6.2
C1 SP38	20-40	67.8	19.9	12.3	NA	NA	NA	87.3	6.0	6.7
C1 SP38	40-80	NA	NA	NA	100.0	<D.L.	<D.L.	86.2	5.3	8.5
C1 SP38	80-100	54.4	36.0	9.6	<D.L.	<D.L.	<D.L.	84.9	5.4	9.7
C1 SP57	0-10	85.4	9.9	4.8	94.2	4.1	1.7	89.9	3.3	6.8
C1 SP57	10-20	78.6	14.4	7.0	NA	NA	NA	79.0	12.8	8.1
C1 SP57	20-40	57.0	31.2	11.9	NA	NA	NA	86.9	3.0	10.0
C1 SP57	40-80	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	87.8	3.2	9.0
C1 SP57	80-100	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	83.3	3.5	13.3
Aneboda SE14	0-10	63.3	17.7	19.0	79.7	7.6	12.6	80.4	8.5	11.1
Aneboda SE14	10-20	70.0	22.2	7.8	23.6	1.9	74.5	87.8	6.8	5.4
Aneboda SE14	20-40	NA	NA	NA	NA	NA	NA	78.9	9.9	11.1
Aneboda SE14	40-80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	76.4	8.4	15.2
Gammtratten SE16	0-10	57.9	18.1	23.9	93.5	6.5	<D.L.	86.1	6.6	7.3
Gammtratten SE16	10-20	NA	NA	NA	NA	NA	NA	80.3	9.2	10.6
Gammtratten SE16	20-40	NA	NA	NA	NA	NA	NA	81.1	8.6	10.4
Gammtratten SE16	40-80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	84.5	12.9	2.6

Sample ID	layer (cm)	Ca-extracted pools relative contributions (%)			Mg-extracted pools relative contributions (%)			K-extracted pools relative contributions (%)		
		NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃	NH ₄ #1	NH ₄ #2	HNO ₃
Gardsjon SE04	0-10	64.2	19.6	16.3	89.1	10.9	<D.L.	80.9	11.3	7.8
Gardsjon SE04	10-20	50.9	14.3	34.8	NA	NA	NA	85.7	9.4	5.0
Gardsjon SE04	20-40	NA	NA	NA	60.7	<D.L.	39.3	83.3	11.4	5.2
Gardsjon SE04	40-80	NA	NA	NA	45.9	<D.L.	54.1	75.3	14.7	10.0
Kindla SE15	0-10	64.1	21.0	14.9	98.0	<D.L.	2.0	74.4	7.4	18.2
Kindla SE15	10-20	51.9	18.7	29.3	90.3	9.7	<D.L.	84.9	7.9	7.2
Kindla SE15	20-40	NA	NA	NA	NA	NA	NA	76.6	<D.L.	23.4
Kindla SE15	40-80	NA	NA	NA	<D.L.	<D.L.	<D.L.	65.9	<D.L.	34.1
Vx	0-5	67.6	18.1	14.3	90.1	9.9	<D.L.	82.9	9.4	7.8
Vx	5-15	64.0	18.1	17.9	51.9	4.3	43.8	90.7	9.3	<D.L.
Vx	15-30	63.5	20.8	15.6	NA	NA	NA	87.7	7.8	4.5
Vx	30-45	65.7	21.9	12.4	NA	NA	NA	81.9	7.3	10.8
Vx	45-60	75.2	19.8	4.9	NA	NA	NA	77.8	7.0	15.2

Table IV-S5 supplementary. Isotopically exchangeable pools and conventional exchangeable pools calculated over the overall soil profile expressed in kg.ha⁻¹. Bold "*" stands for samples where less than three layers were available for a soil profile of which stock calculation was not computed.

Sample ID	Conventional exchangeable pool (kg.ha ⁻¹)			Isotopically exchangeable pool (kg.ha ⁻¹)			Number of layers used to calculated profile stocks		
	Exch _{Ca}	Exch _{Mg}	Exch _K	E _{Ca}	E _{Mg}	E _K	Ca	Mg	K
Azerailles	6326	2328	1476	6798	2319	1869	4	6	6
CHE	50	30	418	122	43	555	4	5	5
DOU	NA	38	295	NA	48	487	2*	5	5
EPI	38	31	351	109	40	491	4	5	5
HET	63	29	243	137	34	371	5	5	5
TSF	13	25	162	43	28	169	3	4	4
Clermont	2883	1906	1153	3654	2833	1594	5	6	6
FOU III	103	NA	331	67	NA	332	3	1*	5
ITATINGA	56	NA	NA	92	NA	NA	5	2*	0*
C1 CHP59	NA	331	NA	NA	409	NA	0*	3	2*
C1 CHS41	2775	166	187	2849	209	363	4	3	3
C1 CPS77	NA	NA	201	NA	NA	198	2*	1*	4
C1 EPC08	97	17	140	102	26	296	4	3	5
C1 EPC63	1781	222	117	1840	321	266	4	5	5
C1 EPC87	NA	NA	102	NA	NA	199	1*	2*	5
C1 HET30	NA	NA	110	NA	NA	223	2*	2*	4
C1 HET64	NA	416	413	NA	454	838	2*	3	4
C1 PS67a	104	NA	60	67	NA	101	3	0	3
C1 SP38	200	NA	55	193	NA	79	3	0	3
C1 SP57	NA	20	122	NA	27	196	2*	3	5
Aneboda SE14	54	14	47	387	26	96	3	3	3
Gammtratten SE16	67	10	41	1027	22	98	3	4	4
Gardsjon SE04	257	72	159	544	112	349	4	3	4
Kindla SE15	29	12	40	373	20	53	3	4	3

Chapitre V

**Apport de l'approche isotopique à la compréhension
de l'évolution de la fertilité chimique du sol : étude
sur 11 sites du réseau RENECOFOR**

1. Introduction

Les écosystèmes forestiers se développent généralement sur des sols acides et pauvres en nutriments. En France, Arrouays and Ranger (2014) ont montré que le pH et le taux de saturation en cations nutritifs (Ca, Mg et K) des sols forestiers est en général plus bas que les sols agricoles. Puisque l'apport d'intrants (*i.e.* amendement et fertilisation) n'est pas une pratique courante de gestion forestière (Ranger et al. 1995), dans la majorité des écosystèmes forestiers, le renouvellement des stocks biodisponibles de Mg, Ca et K dans le sol repose uniquement sur les apports atmosphériques et l'altération des minéraux du sol et varient en fonction du prélèvement par les racines et les pertes par lixiviation dans les eaux de drainage (Ranger and Turpault 1999).

Dans le contexte de changements globaux, les écosystèmes forestiers font face à des contraintes extérieures croissantes qui sont de nature nutritionnelle et/ou sylvicole et/ou climatique. Dans de nombreux cas, en France et dans le reste du monde, il a été démontré que la fertilité chimique des sols forestiers s'est dégradée au cours du XX^{ème} siècle sous l'influence des apports atmosphériques élevés de soufre et d'azote qui ont fortement accéléré l'acidification des sols développés sur des substrats géologiques pauvres en éléments minéraux et augmenté les pertes nettes de cations nutritifs par lixiviation (Reuss and Johnson 1986; Federer et al. 1989). Dans le massif des Vosges, il a été démontré que les apports atmosphériques acides ont fortement contribué à acidifier les sols formés sur des roches mères pauvres en éléments minéraux (granites ou grès), ont accentué les pertes en cations alcalins et alcalino-terreux du sol (Landmann and Bonneau 1995) et favorisé l'apparition de carences magnésiennes.

Depuis les années 1980, en Europe et en Amérique du Nord, une forte diminution de l'acidité des dépôts atmosphériques a été observée (Zaccherio and Finzi 2007; Jonard et al. 2012; Johnson et al. 2018). Bien que certaines études aient montré des signes d'amélioration (Lawrence et al. 2015), dans de nombreux cas, aucune restauration naturelle n'a été observée et pour d'autres, la fertilité chimique continue même de se dégrader (Bailey et al. 2005; van der Heijden et al. 2011; Jonard et al. 2012; Johnson et al. 2018). Plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer ce constat. Tout d'abord, la diminution de l'acidité des dépôts atmosphériques est en grande partie due à une forte diminution des dépôts atmosphériques de

soufre (Citepa 2020; EEA 2020) mais les dépôts atmosphériques d'azote, bien qu'ayant aussi diminué sur la même période, restent élevés dans de nombreux écosystèmes forestiers (Bowman et al. 2008; Bobbink et al. 2010). En parallèle à la diminution des apports atmosphériques de soufre et d'azote, il a été montré dans de nombreuses situations que, depuis les années 1990, les apports atmosphériques en cations nutritifs majeurs (Ca, Mg et K) ont aussi diminué (Hedin et al. 1994; Likens et al. 1998; Lövblad et al. 2000). Enfin, dans certains écosystèmes forestiers, des pertes nettes de cations nutritifs dans les eaux de drainage sont encore observées, malgré une diminution des apports atmosphériques de soufre, dues à un flux de désorption de sulfates dans le sol : le réservoir de sulfate adsorbé sur les particules de sol et constitué lors de la période de forts dépôts atmosphérique de soufre, se désorbe maintenant que les apports atmosphériques de soufre ont diminué (Watmough et al. 2005; van der Heijden et al. 2011).

Par ailleurs, les politiques forestières encouragent de plus en plus une intensification de la sylviculture (*e.g.* exportations accrues de biomasse, raccourcissement des révolutions forestières) afin de réduire les émissions de CO₂ dans l'atmosphère (bioénergie, produits biosourcés) (Ericsson et al. 2004; Puech 2009). Cependant, dans le contexte des écosystèmes forestiers à faible fertilité minérale (par définition plus sensibles aux pressions extérieures), l'intensification de la sylviculture et l'augmentation des exportations de biomasse (rémanents d'exploitation en particulier) risque de fortement réduire les stocks de calcium, magnésium et potassium dans le sol si les pertes nettes de nutriments ne sont pas compensées (Legout et al. 2014b). Sur le moyen à long-terme, ces pratiques risquent de dégrader la fertilité des sols forestiers (Hornbeck et al. 1990; Walmsley and Godbold 2010; Thiffault et al. 2011; Achat et al. 2015). En effet l'exportation des organes les plus concentrés en éléments minéraux (branches, feuilles, aiguilles) (Ponette et al. 2001) sont une perte nette substantielle pour l'écosystème.

Dans ce contexte, la durabilité des fonctions et services (piégeage de carbone, production de bois, qualité de l'eau...) assurés par les écosystèmes forestiers est incertaine et représente aujourd'hui une préoccupation majeure pour les gestionnaires forestiers (van der Heijden et al. 2014a). A titre d'exemple, Jonard et al. (2015) ont mis en évidence une dégradation de la nutrition en phosphore, calcium et magnésium des hêtraies d'Europe et posent la question de leur devenir dans les prochaines décennies si la tendance se poursuit. Il est donc aujourd'hui essentiel de mieux comprendre le fonctionnement des cycles biogéochimiques des nutriments

dans les écosystèmes forestiers, de comprendre et prédire l'évolution de la fertilité chimique des sols au cours du temps, et ainsi préconiser aux gestionnaires forestiers des pratiques assurant la durabilité de ces écosystèmes.

Dans les études de la fertilité des sols forestiers, dans les modèles conceptuels et numériques des cycles biogéochimiques (Bormann and Likens 1967; Likens et al. 1977; Zasoski 1979; Ranger and Turpault 1999), les pools de Ca, Mg et K biodisponibles sont représentés par la quantité présente sous forme aqueuse et échangeable, les pools de cations échangeables étant mesurés par une extraction avec un sel concentré (Thomas 1982; Baize 2018). Cependant, cette mesure n'apporte qu'une vision partielle de ce que la plante est capable de prélever (Fardeau 2000). En effet, la quantification des pools biodisponibles par les méthodes d'extraction est difficile car elle nécessite de définir et d'utiliser un réactif chimique possédant un pouvoir d'extraction similaire à celui du système racinaire d'une plante et les microorganismes associés. Des études ont par ailleurs mis en évidence des différences importantes entre pool de cations échangeables et pool de cations assimilables, comme l'attestent les nombreuses études passées et présentes sur la contribution du K non échangeable à la nutrition des plantes (Kolodny and Robbins 1940; Sparks and Huang 1985; Steiner and Lana 2018).

A ce jour, malgré de nombreuses études détaillées, notre compréhension du fonctionnement des cycles biogéochimiques du Ca, Mg et K est encore incomplète. De nombreuses études ont mis en évidence des discordances entre différentes approches de diagnostic de la fertilité des sols. Ces études ont notamment mis en évidence des différences entre l'évolution mesurée des pools de cations échangeables (mesure conventionnelle entre deux dates) et celle prédite par des modèles théoriques d'évolution de Ca, Mg et K échangeables. Par exemple, le bilan entrées-sorties (différence entre les flux d'entrées et les flux de sorties dans le sol) de Mg calculé pour une sapinière dans les Vosges (van der Heijden et al. 2011) suggère une perte nette de Mg échangeable de l'ordre de $-0.8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ alors que la mesure des pools de cations échangeables à deux dates différentes montre une augmentation nette des stocks de Mg échangeables d'environ $+1.5\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$. De plus, la compréhension de la relation entre les pools échangeables de Ca, Mg et K dans le sol, la nutrition des arbres et des indicateurs de la productivité forestière est encore aujourd'hui incomplète (Lucash et al. 2012; van der Heijden et al. 2013b; van Sundert et al. 2020; Hansson et al. 2020; Legout et al. 2020). Par exemple,

Lucash et al. (2012) ont étudié les liens entre pools de cations échangeables et concentrations foliaires pour plusieurs essences dans le nord-est des Etats-Unis. Leurs résultats n'ont montré aucune corrélation entre les teneurs en cations échangeables du sol et les concentrations foliaires des éléments correspondants dans des écosystèmes forestiers à faible fertilité. Sur le site expérimental de Breuil-Chenu (Bourgogne, FR), malgré des stocks de Mg échangeables et de Ca extrêmement faibles (environ $60 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de Ca et $30 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de Mg sur le profil 0-70 cm), aucun signe de dépérissement (production de biomasse, concentrations foliaires, jaunissement foliaires...) n'a été observé dans une plantation productive de hêtre de 35 ans. Ces observations posent donc la question suivante : comment des peuplements forestiers survivent et maintiennent une bonne productivité alors que les ressources échangeables du sol sont très faibles (Legout et al. 2014a) ?

Les discordances entre les méthodes conventionnelles dans l'estimation de l'évolution des pools de cations échangeables et pour relier propriétés chimiques des sols et nutrition des arbres mettent en évidence les limites de notre compréhension des cycles biogéochimiques du Ca, Mg et K et suggèrent que les arbres ont accès à des sources de Mg, Ca et K qui ne sont actuellement pas ou incomplètement prise en compte.

La dilution isotopique a été décrite comme étant l'approche la plus adéquate pour estimer les pools de nutriments du sol en équilibre avec la solution (appelé par la suite pool isotopiquement échangeable, noté E) (Hamon et al. 2002; Ebelhar 2008). Le pool isotopiquement échangeable représente la quantité d'un ion adsorbé sur les constituants solides du sol qui peut s'échanger rapidement avec des ions du même élément dans la solution du sol, afin de pallier à la perte de ces ions causée par le prélèvement de la plante, par lixiviation ou d'autres flux de sorties. Des études passées et récentes ont montré à travers l'approche isotopique (pool isotopiquement échangeable mesuré par dilution isotopique) que le pool d'élément contribuant aux réactions d'équilibre dans les sols était plus grand que ceux mesurés par les méthodes d'analyse de sol conventionnelles utilisant une solution saline concentration (Blume and Smith 1954; Reeve and Sumner 1969; Graham and Fox 1971; Masozera and Bouyer 1971; Fardeau et al. 1979; van der Heijden et al. 2018). Par exemple, Tendille et al. (1956), dans une expérimentation de dilution isotopique utilisant le ^{42}K sur 10 sols contrastés, ont montré que les pools isotopiquement échangeables de K étaient systématiquement plus grands que les pools échangeables respectifs mesurés par une extraction à l'acétate d'ammonium.

Plus récemment, trois études (van der Heijden et al. 2017, 2018; Bel et al. 2020) conduites sur des sols forestiers ont mesuré les pools isotopiquement échangeables à travers une expérimentation de dilution isotopique en utilisant les isotopes stables de Ca, Mg et K. Les résultats de ces études (i) ont mis en évidence la contribution de compartiments du sol, non-extractible par les méthodes d'analyse de sol conventionnelles, aux réactions d'équilibre et jouent un rôle source/puits, et (ii) suggèrent que des phases minérales secondaires non cristallines d'(hydr)oxydes de Fe et Al et/ou d'aluminosilicates amorphes associés ou non aux matières organiques du sol agissent comme support de ces pools non échangeables conventionnels. En outre, l'étude de Bel et al. (2020) a montré que ce constat s'appliquait sur un large panel de sols forestiers couvrant des propriétés édaphiques et climatiques contrastées. Ces études mettent en exergue la pertinence de l'approche isotopique pour quantifier et tracer les pools d'éléments en équilibre avec la solution du sol. L'objectif général de cette étude est de mieux comprendre le rôle des pools isotopiquement échangeables dans l'évolution de la fertilité chimique des sols forestiers. En particulier, cette étude s'attèlera sur les trois sous-objectifs suivants :

- (1) Evaluer l'évolution des propriétés physico-chimiques conventionnelles des sols de 11 sites du réseau RENECOFOR pour lesquels deux campagnes de prélèvement ont été conduites ;
- (2) Comparer l'évolution de ces indicateurs conventionnels aux indicateurs obtenus par l'approche de dilution isotopique (pool isotopique échangeable) ;
- (3) Combiner les approches conventionnelle et isotopique pour identifier les facteurs explicatifs de ces évolutions et des mécanismes sous-jacents.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Sites d'étude

2.1.1. Sélection des sites d'études

Le réseau RENECOFOR (Réseau National de suivi à long terme des ECOsystèmes FORestiers) a été initié en 1992 avec comme objectif de suivre sur le long terme, le fonctionnement des écosystèmes forestiers français et d'étudier les causes de leurs éventuelles évolutions. Le réseau RENECOFOR fait partie du réseau européen de placettes permanentes de suivi des écosystèmes forestiers ICP-FORESTS. Il est composé de 102 sites répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain français de manière à couvrir une large gamme d'écosystèmes forestiers français. Parmi les 102 placettes du réseau, onze sites de niveau 3 (**Fig II-1** et **Tabl II-1**) ont été retenus pour cette étude. Chaque placette représente une surface clôturée de 0.5 ha et est dominée par une essence d'arbre. Les peuplements forestiers de chaque placette sont gérés en suivant les plans de gestion forestière locaux.

Deux campagnes d'échantillonnages des sols ont été réalisées entre 1993-1995 (première campagne) et entre 2007-2012 (seconde campagne). Dans la placette de 0.5 ha, cinq sous-placettes de 13.5 m x 13.5 m ont été définies dont quatre étaient situées proche des coins de la placette et la cinquième au centre (**Fig II-2**). Pour chaque sous-placette, une grille systématique de maille 4.5 m x 4.5 m (16 points) a été établie et 5 points d'échantillonnage par grille ont été sélectionnés aléatoirement (**Fig II-2**). A chaque point d'échantillonnage, l'humus a été récolté et les trois couches de sol 0-10 cm, 10-20cm et 20-40cm ont été prélevées à l'aide d'une tarière. Pour chaque couche de sol, un échantillon composite a été créé en regroupant les 5 échantillons collectés dans la sous-placette. Ces échantillons composites ont ensuite servi pour réaliser les analyses des propriétés physico-chimiques du sol. Ainsi, pour chaque placette RENECOFOR, l'échantillonnage de sol comprend 5 répliques par couche de sol prélevée. Le même protocole d'échantillonnage a été utilisé lors de la seconde campagne à la nuance que les sous-placettes ont été déplacées de 1.5 m dans une direction fixée. Tous les échantillons composites de sol ont ensuite été archivés.

2.1.2. Bases de données et propriétés physico-chimiques des sites d'études

Une volonté du réseau RENECOFOR a été de mettre en place des méthodologies communes pour garantir une comparabilité minimale des résultats entre placettes et entre campagnes d'échantillonnages. Ainsi, les bases de données des deux campagnes comprennent des analyses des propriétés de sol suivant des protocoles similaires et incluent :

- La distribution granulométrique des 3 fractions (*i.e.* argile, limon, sable) et la densité apparente.
- Les teneurs en carbone et en azote total mesurées par combustion humide (méthode Kjeldhal pour N ; méthode Walkey and Black ou Anne pour C) ou par combustion sèche.
- Les teneurs en cations échangeables (H, Mn, Al, Fe, Ca, Mg, K, Na) mesurées après une extraction de sol avec une solution de sel concentré BaCl_2 (0.1 mol.L^{-1}). La somme des 'bases échangeables' et l'acidité d'échange ont été respectivement définis comme étant la somme de Ca, Mg et K, et la somme d'Al et H. La capacité d'échange cationique effective (ECEC) a été calculée en sommant les 'bases échangeables' et l'acidité d'échange.
- Le phosphore extractible mesuré par la méthode Dyer ou par la méthode Joret-Hébert.

2.2. Mesure des pools isotopiquement échangeables de Calcium, Magnésium et Potassium

2.2.1. Concept général de la mesure des pools isotopiquement échangeables

La technique de dilution isotopique a été décrite comme l'approche la plus adéquate pour mesurer les pools de nutriments et de polluants dans le sol (pool isotopiquement échangeable) qui contribuent directement aux réactions d'équilibre entre les phases solide et liquide du sol (Hamon et al. 2002). Selon la définition donnée par Ebelhar (2008), le pool isotopiquement échangeable (noté E) correspond à la quantité d'un ion stocké dans la phase solide du sol qui peut s'échanger rapidement avec les ions du même élément dans la solution du sol, remplaçant ainsi progressivement ces ions dans la solution suite à leur perte (prélèvement des plantes, lixiviation avec les eaux de drainage ou d'autres flux de sortie).

Succinctement, cette approche consiste à mettre en contact un échantillon de sol avec une solution contenant des traceurs isotopiques. Des échanges entre les phases liquide et solide (échanges ioniques, diffusion, altération, etc.) causent une diminution de l'enrichissement isotopique de la solution du sol par le mélange de la solution de traçage initiale (enrichie) et les

pools du sol (non-enrichis). La variation de la composition isotopique de la solution du sol au cours du temps permet de mesurer les pools isotopiquement échangeables.

La technique de dilution isotopique est une technique bien établie et reconnue pour mesurer les pools de phosphore biodisponible dans le sol (Sen Tran et al. 1988) et de polluants tels que le cadmium, mercure, plomb, nickel, etc. (Hamon et al. 2002; Denys et al. 2002; Sterckeman et al. 2009; Shetaya et al. 2017). Très peu d'études ont appliqué cette approche pour quantifier les pools biodisponibles de cations nutritifs (pool isotopiquement échangeable noté E_{Ca} , E_{Mg} et E_K) et ces études ont eu recours aux radioisotopes de ces éléments (Blume and Smith 1954; Reeve and Sumner 1969; Graham and Fox 1971; Masozera and Bouyer 1971). Dans le cadre de ce travail de thèse, les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K ont été quantifiés en utilisant la technique de dilution isotopique avec les isotopes stables des trois cations d'intérêt : ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K . Cette approche a été testée et validée par des essais préliminaires à ce projet de thèse (van der Heijden et al. 2017, 2018).

2.2.2. Approche expérimentale

2.2.2.1. Solution de traçage

Une solution de traçage enrichie en ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K (concentration : 800, 200 et 500 $\mu g.L^{-1}$) a été fabriquée à partir de composés artificiellement enrichis $^{44}CaCO_3$ (96.45 atom% ^{44}Ca), ^{26}MgO (99.25 atom% ^{26}Mg) et ^{41}KCl (97 atom% ^{41}K) dissout dans de l'eau ultrapure (Millipore 18.2 Ω). Le pH_{eau} de la solution a été ajusté pour correspondre pH_{eau} de chaque échantillon de sol par l'ajout d'acide nitrique purifiée (HNO_3 - 69% doublement distillé).

L'approche expérimentale de dilution isotopique nécessite une phase durant laquelle l'échantillon de sol s'équilibre avec la solution de traçage. Dans cette étude, l'approche expérimentale par agitation dans des tubes de centrifugation (détaillée ci-dessous) a été retenue pour mesurer les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. Ce choix s'est porté suivant les recommandations préconisées dans une précédente étude (**chapitre 3**).

2.2.2.2. Dispositif expérimental

Chaque réacteur est composé de 2.5g de sol sec tamisé à 2mm, pesé dans des tubes Falcon en polypropylène de 50 mL dans lesquels 50 mL de solution de traçage ont été introduits (**Fig II-**

7). Les réacteurs ont été hermétiquement fermés et mis en agitation continue. Après 1h, 6h, 24h et 48h, les réacteurs ont été centrifugés (3000 rpm) durant 20 min afin de prélever 12.5 mL de surnageant pour les analyses élémentaire et isotopique. Le culot de sol a été remis en suspensions via un agitateur vortex puis remis en agitation continue jusqu'au pas de temps suivant.

2.2.2.3. *Extractions séquentielles des compartiments du sol*

A l'issue des derniers prélèvements dans la solution de traçage, le culot de sol restant dans chaque réacteur est conservé pour réaliser quatre extractions séquentielles :

9. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 1h. Ci-après nommé $\text{NH}_4\#1$;
10. 50 mL d'acétate d'ammonium (1 mol.L^{-1} et non tamponné) et agité continuellement durant 24h. Ci-après nommé $\text{NH}_4\#2$;
11. 50 mL d'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1} , tamponné à $\text{pH} = 3$) et agité continuellement durant 3h ;
12. 50 mL d'acide nitrique purifié (1 mol.L^{-1}) et agité continuellement durant 20h. Ci-après nommé HNO_3 .

Les deux premières extractions à l'acétate d'ammonium ciblent les cations échangeables. L'extraction à l'acétate d'ammonium (0.1 mol.L^{-1}) tamponné à $\text{pH} 3$ a été réalisée pour s'assurer que l'ensemble des cations échangeables soit extrait avant la dernière extraction à l'acide nitrique. L'acide nitrique (1 mol.L^{-1}) est une extraction forte et non sélective capable de dissoudre de nombreuses phases secondaires tel que les allophanes, les complexes organométalliques de fer et d'aluminium et partiellement les (hydr)oxydes d'aluminium et de fer, certains argiles (e.g. vermiculite, chlorite, smectite) et des minéraux primaires facilement altérables (e.g. biotite, muscovite) (Nezat et al. 2007). Méthodes d'analyses

2.2.3. *Mesure des concentrations élémentaires*

La concentration des éléments majeurs et traces dans les solutions et extractions de sol ont été mesurés par spectroscopie d'émission atomique par plasma induit (AGILENT 7500 series).

2.2.4. Mesure des rapports isotopiques

Les rapports isotopiques $^{44/40}\text{Ca}$, $^{24/26}\text{Mg}$ et $^{41/39}\text{K}$ ont été mesurés par ICP-MS quadripolaire (spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif ; Analytik Jena 820MS). Chaque rapport isotopique est mesuré séparément.

La réponse du détecteur n'étant pas linéaire aux concentrations en Ca, Mg et K, trois aliquotes ont été constituées par échantillon pour la mesure des trois rapports isotopiques, puis dilués ou concentrés afin d'obtenir une concentration de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour Ca et Mg et $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour K. Pour prévenir des interférences matricielles à l'analyse isotopique, les extraits d'acétate d'ammonium ont été minéralisés avec 5 mL d'eau oxygéné (H_2O_2 30%) après évaporation complète de la solution d'extraction. Les échantillons ont été refermés non hermétiquement et laissés 1 semaine sur une plaque chauffante à 70°C . A l'issue de la minéralisation, les échantillons ont été évaporés complètement et les résidus secs ont été remis en solution avec de l'eau Millipore acidifiée à 1% avec de l'acide nitrique purifié (HNO_3 69%).

En raison de la non linéarité de la réponse du détecteur à l'enrichissement de ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K , une correction du biais de masse a été réalisée par la méthode d'encadrement par 2 standards internes enrichies de ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K et mesurés tous les 12 échantillons. Les standards ont été sélectionnés en s'assurant que les rapports isotopiques des standards encadraient bien ceux des échantillons.

2.3. Méthode de calcul

Pool isotopiquement échangeable

Par définition, le pool isotopiquement échangeable est en équilibre avec la solution du sol. Sa quantification repose sur le postulat que leurs signatures soient égales. Suivant ce postulat, le pool isotopiquement échangeable peut être calculé à partir de l'enrichissement isotopique mesuré dans la solution selon l'équation (1) (les équations sont données pour le Mg) :

$$E_{Mg} = Mg_{traceur} \times \left(\frac{1}{\alpha_{solution}^{Mg}} - 1 \right) \quad (1)$$

Où E_{Mg} est le pool isotopiquement échangeable en $\mu\text{g.g}$ de sol sec^{-1} , $Mg_{traceur}$ est la quantité de traceur ajoutée au système en $\mu\text{g.g}$ de sol sec^{-1} et $\alpha_{solution}^{Mg}$ représente la fraction de Mg dans la phase liquide provenant de la solution de traçage et est calculée selon l'équation (2) :

$$\alpha_{solution}^{Mg} = \frac{(\%^{26}Mg)_{solution} - (\%^{26}Mg)_{nat}}{(\%^{26}Mg)_{traceur} - (\%^{26}Mg)_{nat}} \quad (2)$$

Où $\%^{26}Mg_{solution}$ représente l'abondance atomique en ^{26}Mg dans la solution, $\%^{26}Mg_{nat}$ l'abondance naturelle en ^{26}Mg , et $\%^{26}Mg_{traceur}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage enrichie.

Contribution des différents pools de Mg, Ca et K extraits du sol au pool isotopiquement échangeable

La distribution relative des traceurs isotopiques dans les différents compartiments extraits du sol peut être utilisée pour quantifier la contribution relative de chaque compartiment extrait (*i.e.* $NH_4\#1$, $NH_4\#2$ et HNO_3) au pool isotopiquement échangeable de Ca, Mg et K. Cette contribution relative est calculée en divisant la quantité de traceur retrouvée dans chaque compartiment (recouvrement de traceur) par la somme des quantités de traceur retrouvées dans les trois compartiments extraits.

Fraction isotopiquement échangeable de chaque pool de Mg, Ca et K extraits du sol

La fraction isotopiquement échangeable de chaque compartiment extrait (*i.e.* $NH_4\#1$, $NH_4\#2$ et HNO_3) est calculée selon le postulat que la composition isotopique du pool isotopiquement échangeable est égale à celle dans la phase liquide (équation (3)) :

$$\alpha_{pool}^{IE Mg} = \frac{(\%^{26}Mg)_{compartiment} - (\%^{26}Mg)_{nat}}{(\%^{26}Mg)_{solution} - (\%^{26}Mg)_{nat}} \quad (3)$$

Où $\%^{26}Mg_{compartiment}$ est l'abondance atomique en ^{26}Mg dans les compartiments extraits et $\%^{26}Mg_{solution}$ l'abondance atomique en ^{26}Mg de la solution de traçage au dernier pas de temps de la cinétique de dilution isotopique (*i.e.* 168h et 48h respectivement en percolation et en agitation).

Pool échangeable expérimental

Un pool échangeable expérimental (Exch_Exp_x) a été construit en additionnant les quantités élémentaires de Ca, Mg ou K trouvées dans la solution de traçage à l'issue de la dilution isotopique ainsi que des quantités de Ca, Mg ou K extraites par les deux extractions à l'acétate d'ammonium.

2.4. Limites de quantification

Pour la mesure des concentrations élémentaires de Ca, Mg et K, les limites de quantification sont données dans le **tableau II-3** selon le type d'échantillon (solution de sol, extraction acétate d'ammonium ou acide nitrique). Pour l'enrichissement isotopique la limite de quantification a été établie à 10‰ pour le ^{44}Ca et ^{26}Mg , et 20‰ pour le ^{41}K . Cette limite de quantification a été définie en fonction, d'une part, de la variabilité naturelle des rapports isotopiques stables du Ca, Mg et K dans les différents réservoirs de la planète et, d'autre part, de la précision et répétabilité des mesures de rapports isotopiques par l'ICP-MS quadripolaire (van der Heijden et al. 2013a, 2014b). Lorsqu'un échantillon était en dessous de la limite de quantification (concentration élémentaire ou enrichissement isotopique), le recouvrement de traceur isotopique dans cet échantillon a été défini comme nul. Pour les échantillons dont les concentrations étaient trop faibles pour permettre la conduction d'analyse isotopique, leurs concentrations ont été considérées comme étant sous la limite de détection.

2.5. Validation post-analytique des échantillons

Les échantillons isotopiquement enrichis sont particulièrement sensibles aux contaminations. Bien que toutes les précautions aient été prises pour limiter ces contaminations, le Ca, Mg et K sont des éléments très abondants et les échantillons liquides peuvent être facilement contaminés pour diverses raisons (vaisselle de laboratoire non propre, poussières dans l'atmosphère, etc.). Une contamination même faible peut engendrer une variation forte des rapports isotopiques et ainsi un biais important dans l'interprétation des résultats. Les résultats associés à chaque échantillon ont donc été vérifiés selon une liste de critères permettant d'exclure les échantillons contaminés. Puisqu'il n'y a pas nécessairement de relations entre les contaminations potentielles en Ca, Mg ou K, les critères de validation ci-dessous ont été appliqués indépendamment pour chacun des trois éléments :

1. **Base de données des pools isotopiquement échangeables E_{Ca} , E_{Mg} et E_{K} .** Chaque cinétique de dilution isotopique est constituée de quatre mesures de la solution du sol (concentration élémentaire et rapport isotopique). Si au moins une de ces quatre mesures était manquante (e.g. perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.), le pool isotopiquement échangeable ne pouvait être calculé. D'après le concept de dilution isotopique, il est attendu que l'enrichissement isotopique dans la solution du sol diminue au cours du temps de manière monotone. Une rupture de la monotonie de la courbe de dilution

isotopique suggère qu'un point d'échantillonnage de la cinétique a été contaminé. Dans de tels cas, le pool isotopiquement échangeable de cet échantillon a été considéré comme invalide et retiré du jeu de données.

- 2. Base de données d'extractions de sol.** Pour un échantillon de sol, si au moins une des trois extractions de sol (*i.e.* NH₄#1, NH₄#2 and HNO₃) était manquante (*e.g.* perte échantillon, volume insuffisant pour analyse, etc.) ou si le recouvrement de traceur cumulé sur l'ensemble du système (solution + sol) était supérieur à 120% de la quantité de traceur apportée initialement avec la solution de traçage, les données d'extractions du sol ont été considérées comme invalides et ont été retirées du jeu de données.

Après validation, le jeu de données comparables de E_{Ca}, E_{Mg} et E_K est composé de 13 échantillons pour le Ca (8 sites), de 2 échantillons pour le Mg (2 sites) et de 18 échantillons pour le K (9 sites). Le jeu de données des extractions de sol était composé de 26 échantillons pour le Ca (10 sites), de 8 échantillons pour le Mg (6 sites) et de 18 échantillons pour le K (8 sites).

2.6. Méthodes statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R : version 3.6.1 (<http://www.r-project.org/>). L'ensemble des figures ont été réalisées au moyen du package ggplot2 (Wickham 2009).

Le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (échantillons appariés) a été utilisé pour tester la significativité statistique des évolutions de propriétés physico-chimiques des sols entre les deux campagnes de prélèvement. Préalablement, la normalité des distributions a été évaluée par un test Shapiro-Wilk, et l'homoscédasticité par un test de Levene. Les corrélations entre les différentes variables du jeu de données ont été calculées par le test de corrélation de Spearman. La significativité de l'ensemble des tests a été fixée au risque $\alpha < 0.05$.

3. Résultats et Discussion

Des évolutions contrastées ont été observées entre les deux campagnes d'échantillonnage du sol sur les 11 sites du réseau RENECOFOR étudiés dans ce chapitre. Sur l'ensemble du jeu de données d'analyses physico-chimique conventionnelles du sol, pour certaines variables mesurées, des différences entre les deux campagnes étaient statistiquement significatives (**Tabl V-1**) : 13 échantillons sur 33 pour le taux de saturation (S/T), 11 pour le Ca^{2+} échangeable, 15 pour le Mg^{2+} échangeable, 14 pour K^+ échangeable et 24 pour H^+ échangeable. En utilisant le S/T comme indicateur de l'évolution de la fertilité chimique des sols des 11 sites, trois sous-ensembles ont pu être définis parmi les 33 échantillons étudiés (**Fig V-1**). Pour un premier sous-ensemble, le S/T a diminué entre les deux campagnes (groupe 1). Pour un second, le S/T n'a pas ou très peu évolué (groupe 2). Pour un troisième (groupe 3), une augmentation du S/T a été observée entre les deux campagnes.

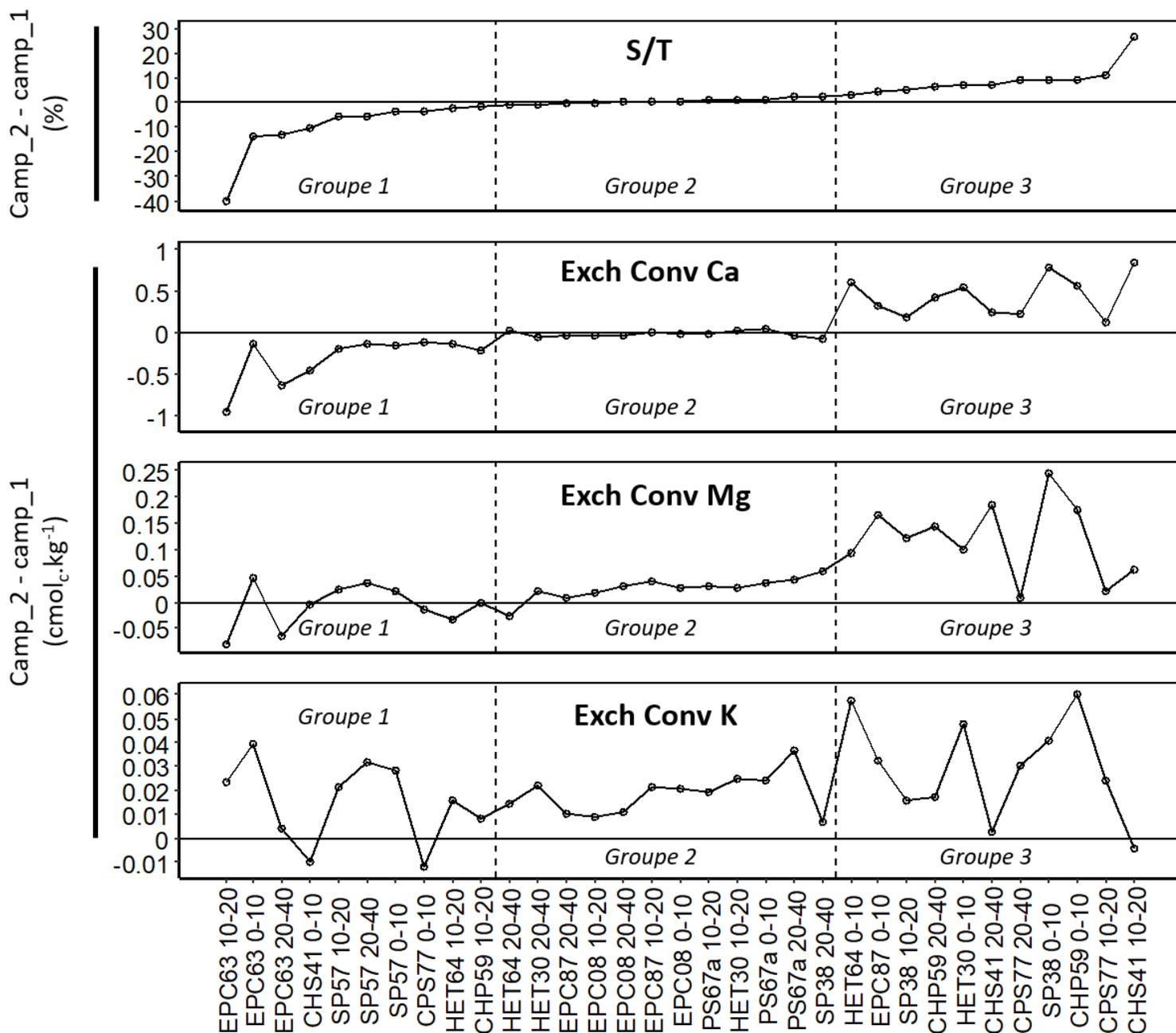


Figure V-1. Distribution des évolutions des taux de saturation (S/T) et des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca, Exch Conv Mg, Exch Conv K) des 33 échantillons étudiés. Les échantillons sont classés selon le critère d'évolution du taux de saturation entre les deux campagnes de prélèvement : diminution du S/T (groupe 1), pas ou peu d'évolution du S/T (groupe 2) et augmentation du S/T (groupe 3).

Tableau V-1. Evolutions des propriétés chimiques des 11 sites du réseau RENECOFOR exprimées par la différence entre les valeurs de la seconde campagne et de la première campagne de prélèvements. La significativité des évolutions est donnée par les astérisques (* p-value < 0.05, ** p-value < 0.01).

Site	Hor cm	Groupe	pH_eau	pH_CaCl2	C g.kg ⁻¹	CEC cmol _c .kg ⁻¹	S/T %	Ca ech cmol _c .kg ⁻¹	K ech cmol _c .kg ⁻¹	Mg ech cmol _c .kg ⁻¹	Ac ech cmol _c .kg ⁻¹	Al ech cmol _c .kg ⁻¹	H ech cmol _c .kg ⁻¹
CHP 59	0--10	3	-0.06	0.02 *	11.30	0.46	8.7	0.55	0.06 *	0.17 *	-0.07	-0.21	-0.23 **
CHP 59	10--20	1	-0.06	-0.02	0.08	-0.48 *	-1.6	-0.21	0.01	0.00	-0.17	0.06	-0.25 **
CHP 59	20--40	3	0.08	-0.01	-0.88	0.16	6.5	0.41	0.02 *	0.14	-0.35	-0.16	-0.16 **
CHS 41	0--10	1	-0.05	-0.17	-6.49	-0.23	-7.7	-0.47 **	-0.01	-0.01	0.54	0.69 *	-0.22
CHS 41	10--20	3	0.38 *	0.09	-0.13	0.01	27.0 *	0.85	0.00	0.06	-0.80 *	-0.60	-0.19 **
CHS 41	20--40	3	0.16 **	-0.02	0.07	0.69	7.9	0.24	0.00	0.19	0.33	0.48	-0.11 **
CPS 77	0--10	1	-0.28 *	-0.21	-8.26 **	0.14	-4.4	-0.12	-0.01	-0.01	0.34 *	0.01	0.00
CPS 77	10--20	3	0.19	-0.01	0.16	0.06	5.1	0.11	0.02 **	0.02 **	0.07	0.00	0.04 **
CPS 77	20--40	3	0.42	0.37	-0.21	0.18	7.1	0.23	0.03 **	0.01	0.06	0.04	0.05 *
EPC 08	0--10	2	-0.13	-0.07	6.09	0.05	0.8	-0.02	0.02	0.03	0.41	-0.16	-0.23
EPC 08	10--20	2	-0.12	-0.10	2.36	-0.54	-1.8	-0.04	0.01 *	0.02 *	-0.32	-0.16	-0.19 *
EPC 08	20--40	2	0.00	-0.07	3.01	-0.22	0.7	-0.03	0.01 *	0.03 *	-0.04	0.03	-0.02
EPC 63	0--10	1	0.07	-0.18 *	61.80 **	3.76 **	-12.8 **	-0.14	0.04	0.05	3.77 **	3.22 **	0.03
EPC 63	10--20	1	-0.30	-0.24 *	38.90 **	0.62	-37.8 **	-0.96 **	0.02	-0.08	1.74 *	1.66 *	0.03 *
EPC 63	20--40	1	-0.28 *	-0.13 *	23.38 **	-0.46	-11.7 *	-0.63	0.00	-0.06	0.28 **	0.29 *	0.03 *
EPC 87	0--10	3	-0.12	-0.21 *	23.55 **	1.08 *	4.3 **	0.32 **	0.03 *	0.17 **	0.92	0.65	-0.11
EPC 87	10--20	2	-0.11 *	-0.12	18.66 **	0.74	0.4	0.00	0.02 *	0.04 *	0.79	1.06	-0.32 *
EPC 87	20--40	2	-0.03	-0.08 *	6.55	-0.05	-2.6	-0.03 *	0.01 **	0.01	0.07	0.31	-0.17 **
HET 30	0--10	3	-0.20	-0.09	-10.58	0.60	7.0 **	0.55 **	0.05 *	0.10	0.17	-0.54	-0.08
HET 30	10--20	2	-0.16 *	-0.07	11.34	0.10	1.1	0.02	0.03 *	0.03 *	0.21	0.17	-0.08 *
HET 30	20--40	2	-0.16 *	-0.08	4.37	0.07	-0.2	-0.06	0.02 *	0.02	0.17	0.18	0.01
HET 64	0--10	3	0.08	-0.03	1.58	0.58	2.0	0.60	0.06	0.09	0.31	-0.07	-0.02
HET 64	10--20	1	0.07	-0.12 *	3.21 **	-0.01	-2.2	-0.13	0.02	-0.03	0.39	0.14	0.02
HET 64	20--40	2	0.14	-0.08	1.75	0.01	0.2	0.02	0.01	-0.03	0.18	0.04	0.04 **
PS 67a	0--10	2	-0.34 **	-0.19	8.74 *	0.93 *	0.9	0.05	0.02	0.04 *	1.04 **	0.58 **	0.19
PS 67a	10--20	2	-0.15	-0.19	3.32	-0.08	0.8	-0.03	0.02 *	0.03 *	0.15	0.20	-0.17 *
PS 67a	20--40	2	-0.02	-0.13 *	1.79	-0.25	4.6	-0.05	0.04 *	0.04 *	-0.10	0.05	-0.08 **
SP 38	0--10	3	-0.09	-0.06	22.17 **	1.96 *	8.2	0.78	0.04 **	0.24 **	1.28	0.60	-0.22
SP 38	10--20	3	-0.07	-0.06	9.19 *	0.52	4.5	0.17	0.02	0.12	0.37	0.54	-0.25 *
SP 38	20--40	2	0.02	0.04	0.20	-0.83	-0.8	-0.07	0.01	0.06	-0.64	-0.50	-0.14 **
SP 57	0--10	1	-0.23	-0.19	1.57	0.05	-5.2	-0.17	0.03 **	0.02	0.63	0.17	-0.03
SP 57	10--20	1	-0.15	-0.12	-1.53	-0.08	-6.6	-0.19	0.02 *	0.02	0.33	0.36	-0.22 *
SP 57	20--40	1	-0.16	-0.12	-0.98	-0.17	-2.5	-0.14	0.03 *	0.04 *	0.13	0.20	-0.08 *

3.1. Amélioration de la fertilité : Groupe 3

Pour les horizons de sol composant ce groupe, de nombreux indicateurs suggèrent que la fertilité chimique du sol s'est améliorée entre les deux campagnes d'échantillonnage du sol. Pour la majorité de ces échantillons, le pH du sol (pH_{eau}) a augmenté alors qu'il a majoritairement diminué pour les deux autres groupes (**Fig V-2**). Les pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ont augmenté et en moyenne plus fortement que les deux autres groupes (**Fig V-3**). Si l'acidité d'échange n'a, en médiane, pas évolué pour ce groupe, le taux de saturation et la capacité d'échange cationique ont nettement augmenté. Il est probable que l'augmentation du pH_{eau} du sol ait causé une augmentation des charges variables de la capacité d'échange cationique en favorisant la déprotonation de groupements fonctionnels tels que les groupements carboxyles des acides organiques.

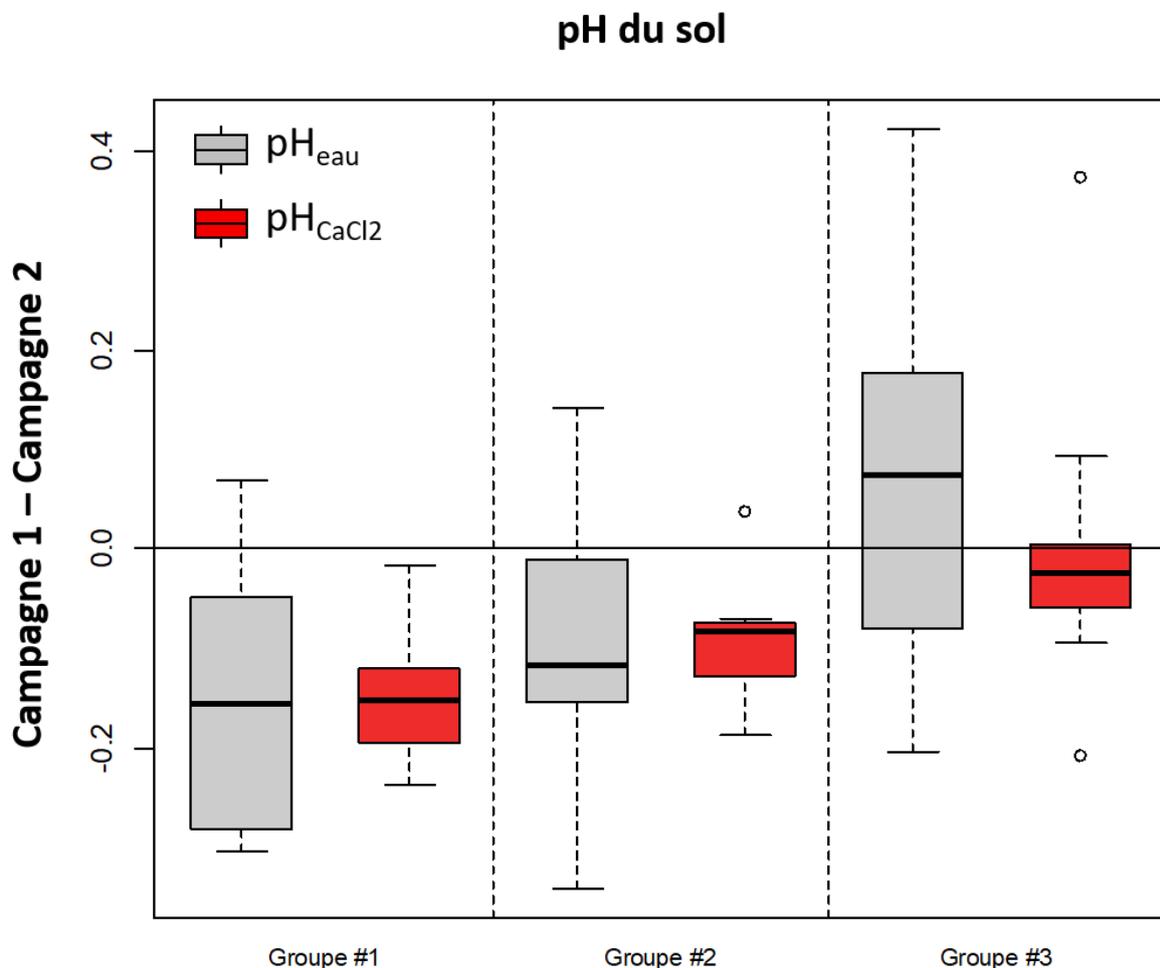


Figure V-2. Distribution pour les trois groupes des évolutions des pH_{eau} et $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ des sols entre les deux campagnes.

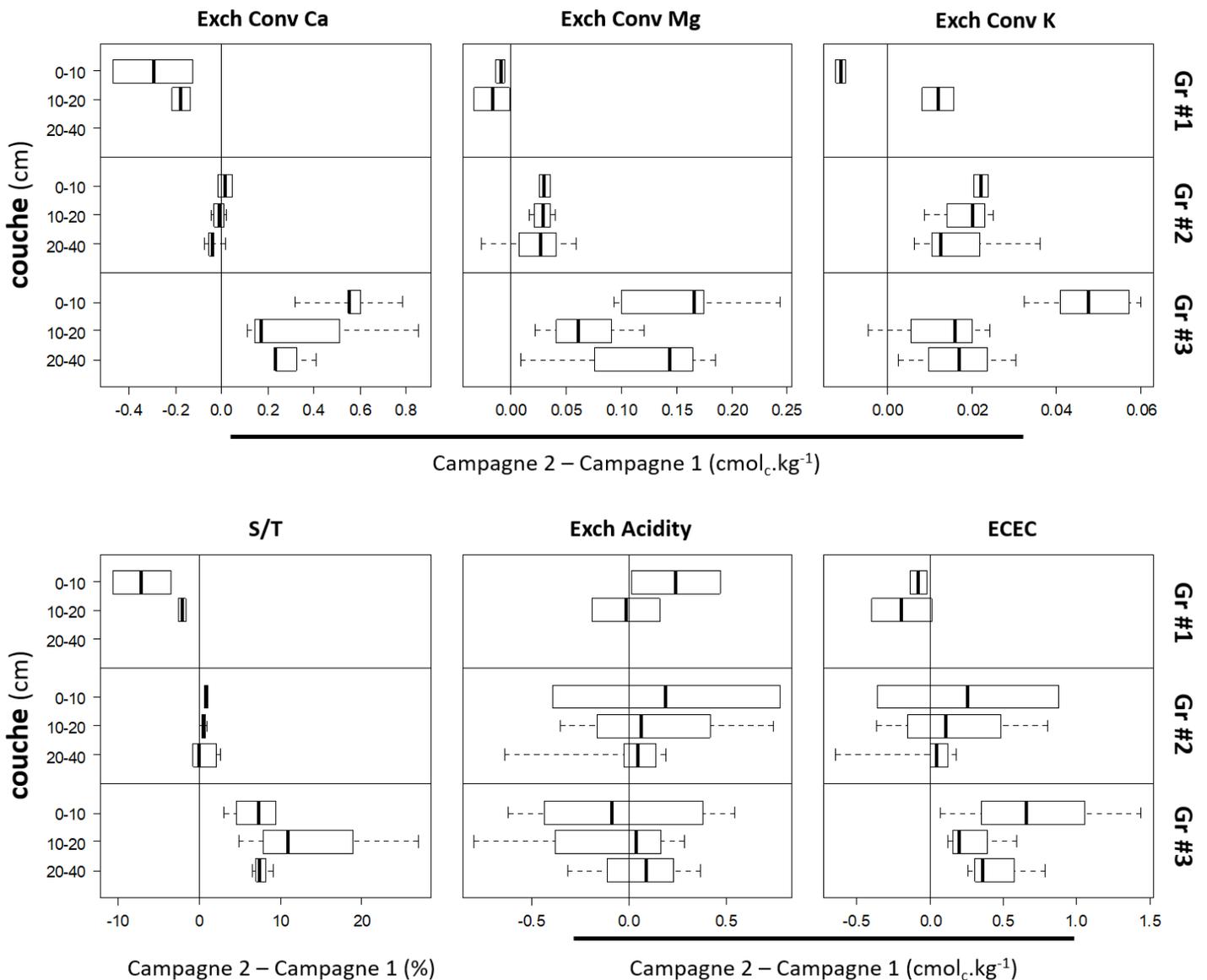


Figure V-3. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ($\text{Exch Con}_{\text{Ca}}$, $\text{Exch Con}_{\text{Mg}}$ et $\text{Exch Con}_{\text{K}}$) et des évolutions du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange ($\text{Exch}_{\text{acidity}}$) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.

Toutefois, pour certains horizons de sol, cette amélioration de la fertilité chimique est à nuancer. Par exemple, bien que l'on observe une amélioration de nombreux indicateurs de l'horizon 0-10 cm du site HET64 et de l'horizon 10-20 cm du site SP38, aucune n'est statistiquement significative (**Tabl. V-1**). Un constat similaire a été observé pour les horizons 20-40 cm des sites CHS41 et CHP59 et dont un nombre limité d'indicateurs suggère une amélioration de la

fertilité chimique : seul une augmentation significative du pH_{eau} pour l'horizon 20-40 cm du site CHP59 et du pool échangeables conventionnels de K pour l'horizon 20-40 cm du site CHS41 ont été observées ($p\text{-value} < 0.01$). Enfin, pour les horizons 10-20 cm et 20-40 cm du site CPS77, les augmentations des taux de saturations et de pools échangeables ne sont également pas statistiquement significatives. De plus, pour ces mêmes horizons, des diminutions significatives ($p\text{-value} < 0.01$) des pools échangeables conventionnels de Mg et K ont été observées. Ces résultats suggèrent que ces échantillons de sol sont dans un état de transition pour lequel certains horizons semblent tendre vers une dégradation (*e.g.* CPS77) ou une amélioration (*e.g.* CHP59 20-40 cm) des niveaux de fertilité.

Les augmentations des pools E_{Ca} et E_{K} ainsi que des pools nitriques de Ca isotopiquement échangeables et des pools de Ca, Mg et K extractible par la méthode HNO_3 (**Fig V-4**), suggèrent un stockage, non seulement dans les pools échangeables conventionnels mais également dans d'autres phases du sol réactives. Les précédentes études ont mis en évidence que des phases minérales secondaires non cristallines contribuaient directement au pool source/puits des cations nutritifs Ca, Mg et K (van der Heijden et al. 2018; Bel et al. 2020). Les résultats observés pour ce groupe 3 montrent que ces pools, autres que les pools échangeables conventionnels, peuvent effectivement jouer le rôle de puits de cations lorsque leur disponibilité dans le sol augmente contribuant ainsi à leur maintien sur le moyen à long-terme dans le système sol-plante.

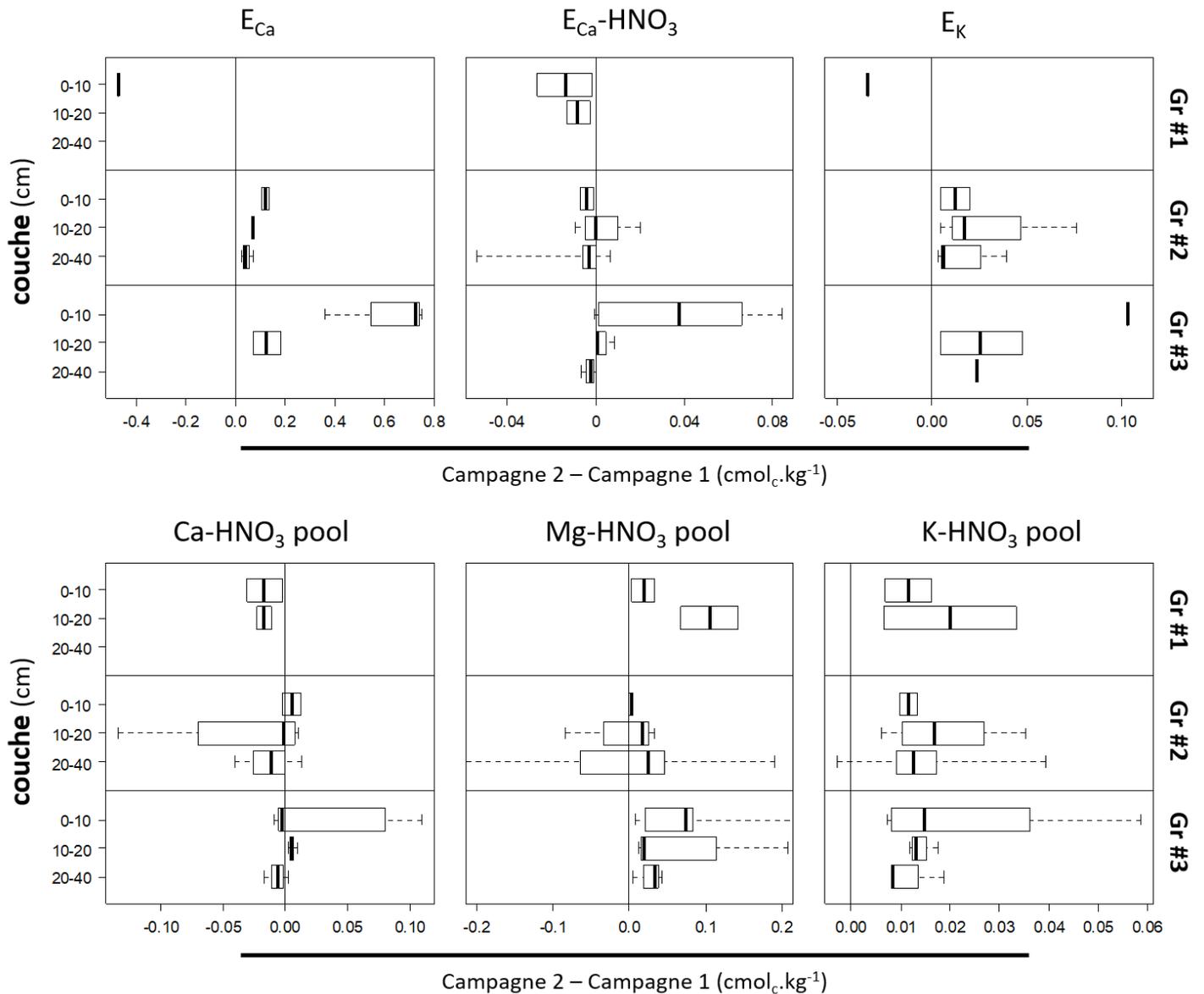


Figure V-4. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools isotopiquement échangeables de Ca et K (E_{Ca} , E_K), du pool isotopiquement échangeable de Ca extrait par la méthode HNO₃ ($E_{Ca} - HNO_3$) et des pools de Ca, Mg et K extraits par la méthode HNO₃ entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.

L'augmentation conjointe des pools échangeables conventionnels et isotopiquement échangeables montrent que pour ces horizons de sol, les flux d'entrées ont excédé les flux de sorties, créant ainsi un bilan de masse positif. Une augmentation du flux d'entrée de cations nutritifs pourrait être expliquée i) par une libération des cations nutritifs contenus dans la matière organique du sol suite à une accélération de leur décomposition, ii) par les apports de cations nutritifs dans les dépôts atmosphériques ou iii) par l'apport de cations par l'altération des minéraux du sol.

- L'augmentation de la teneur en carbone dans les horizons 0-10 cm (**Fig V-5**) permet de rejeter l'hypothèse de la source organique suite à l'accélération de la décomposition de la matière organique. Jonard et al. (2017), dans une étude portant sur les évolutions des stocks de carbone sur les 102 placettes du réseau Renecofor, ont également montré que les sols avaient en moyenne accumulé $0.35 \text{ MgC}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ entre 1993 et 2012. En revanche, cette augmentation de la teneur en carbone explique probablement la plus forte augmentation de la capacité d'échange cationique dans l'horizon 0-10 cm ainsi que l'augmentation des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K et la baisse du pH_{eau} du sol dans cet horizon. Pour cet horizon, le pool de Ca extrait par la méthode HNO_3 ainsi que le pool de Ca isotopiquement échangeable dans l'extraction HNO_3 du sol ont aussi plus fortement augmenté (**Fig V-4**). Comme démontré dans une précédente étude réalisée sur une large gamme d'échantillons de sol (Bel et al. 2020), la matière organique du sol joue un rôle important dans la rétention du calcium dans le sol sous une forme disponible mais non quantifiée par les analyses de sol conventionnelles. L'ensemble de ces résultats montre l'importance de la dynamique du carbone des sols forestiers dans les cycles biogéochimiques des cations nutritifs, et du calcium en particulier.
- Les dépôts atmosphériques ont aussi pu contribuer à l'augmentation des pools échangeables des cations nutritifs dans l'horizon 0-10 cm, mais une augmentation de la contribution des apports atmosphériques semble peu probable, puisque d'une manière générale, des diminutions plutôt que des augmentations des apports atmosphériques sont observées dans les écosystèmes forestiers (Hedin et al. 1994; Lövblad et al. 2000; Jonard et al. 2012). Pour les sites en question, les concentrations dans les pluies collectées hors et sous couvert suggèrent que les apports atmosphériques de Mg et K sont restés stables entre les deux campagnes et que les apports de Ca sont soit restés stables, soit ont diminué (données non présentées).

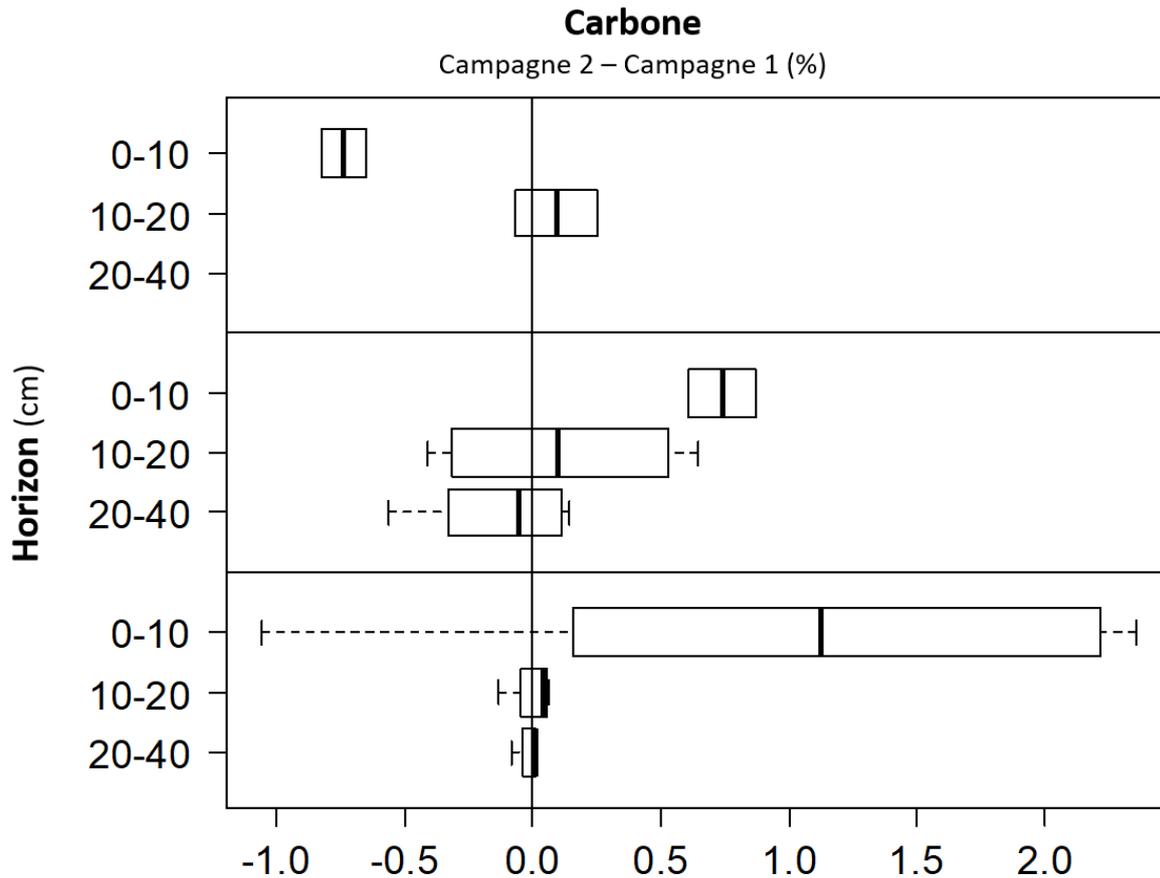


Figure V-5. Distribution pour les trois groupes, des évolutions de la teneur en carbone totale des sols en fonction de la profondeur entre les deux campagnes. Les sites SP57 et EPC63 ont été retirés de cette figure.

- La troisième hypothèse (i.e. flux d'altération minérale) semble la plus probable. En effet, les pools de Ca, Mg et K extractible par la méthode HNO₃ du sol (Campagne 1) étaient supérieures pour le groupe 3 comparés aux deux autres groupes (**Fig V-6**). Cette observation suggère que ces horizons de sol ont une certaine richesse minéralogique et un potentiel d'altération minérale plus élevé. Cette richesse minéralogique et le potentiel d'altération minérale associé est aussi en accord avec les analyses physico-chimiques de la campagne 1 : le groupe 3 est composé d'échantillons de sol dont les propriétés en lien avec la fertilité chimique (pools échangeables de Ca, Mg et K, CEC, S/T, pH_{eau}) sont relativement meilleures comparativement aux groupes 1 et 2.

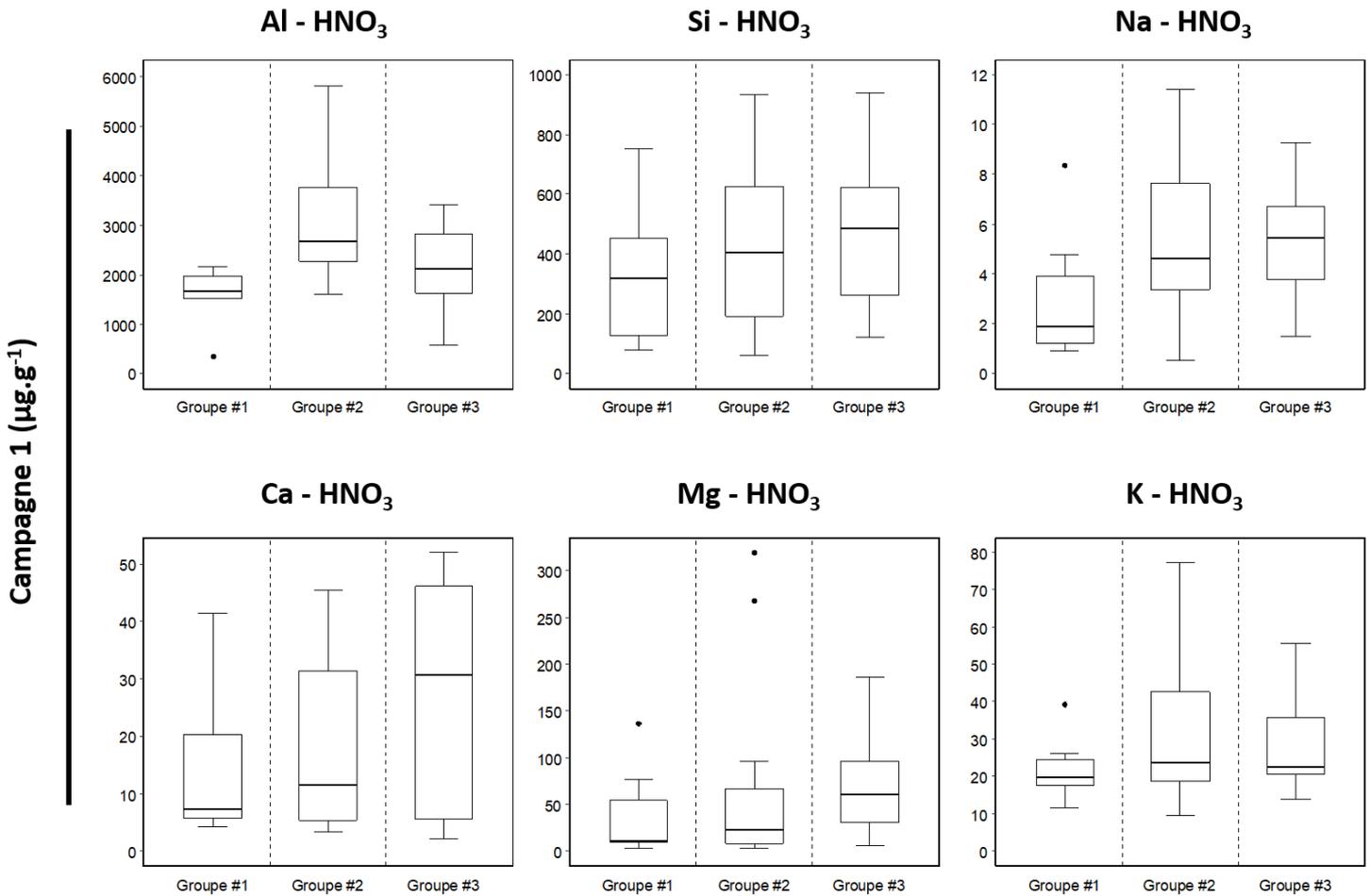


Figure V-6. Distribution pour les trois groupes, des pools initiaux d'Al, Si, Na, Ca, Mg et K extraits à l'acide nitrique (valeurs de la première campagne). Pour ces figures, le site EPC63 a été retiré du jeu de données.

3.2. Etat stationnaire ou légère dégradation : Groupe 2

Le groupe 2 est représenté par les échantillons de sol pour lesquels aucune ou une très faible évolution a été observée entre les deux campagnes de prélèvement (**Fig V-3**). Pour ces échantillons le niveau de fertilité était initialement déjà très faible (Campagne 1 ; **Fig V-7**). Les pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K étaient en moyenne et en général plus faibles que les autres groupes, notamment pour le Ca. La distribution des capacités d'échanges cationiques se situait entre celles du groupe 1 et du groupe 3 tandis que l'acidité d'échange était en moyenne plus importante que les autres groupes. Les taux de saturation en bases échangeables étaient en conséquence très faibles, ne dépassant que rarement les 10%. Pour ces sites, le pool échangeable de calcium est resté en moyenne stable au cours du temps tandis que

les pools échangeables de Mg et de K ont légèrement augmenté (**Fig V-3**). Le faible niveau de fertilité chimique observé à travers les analyses physico-chimiques de la première campagne de prélèvement de sol suggère que la richesse minéralogique et le potentiel d'altération minérale pour ces horizons de sol sont également faibles (**Fig V-6**). Il n'est donc pas surprenant que le niveau de fertilité n'ait pas fortement évolué entre les deux campagnes.

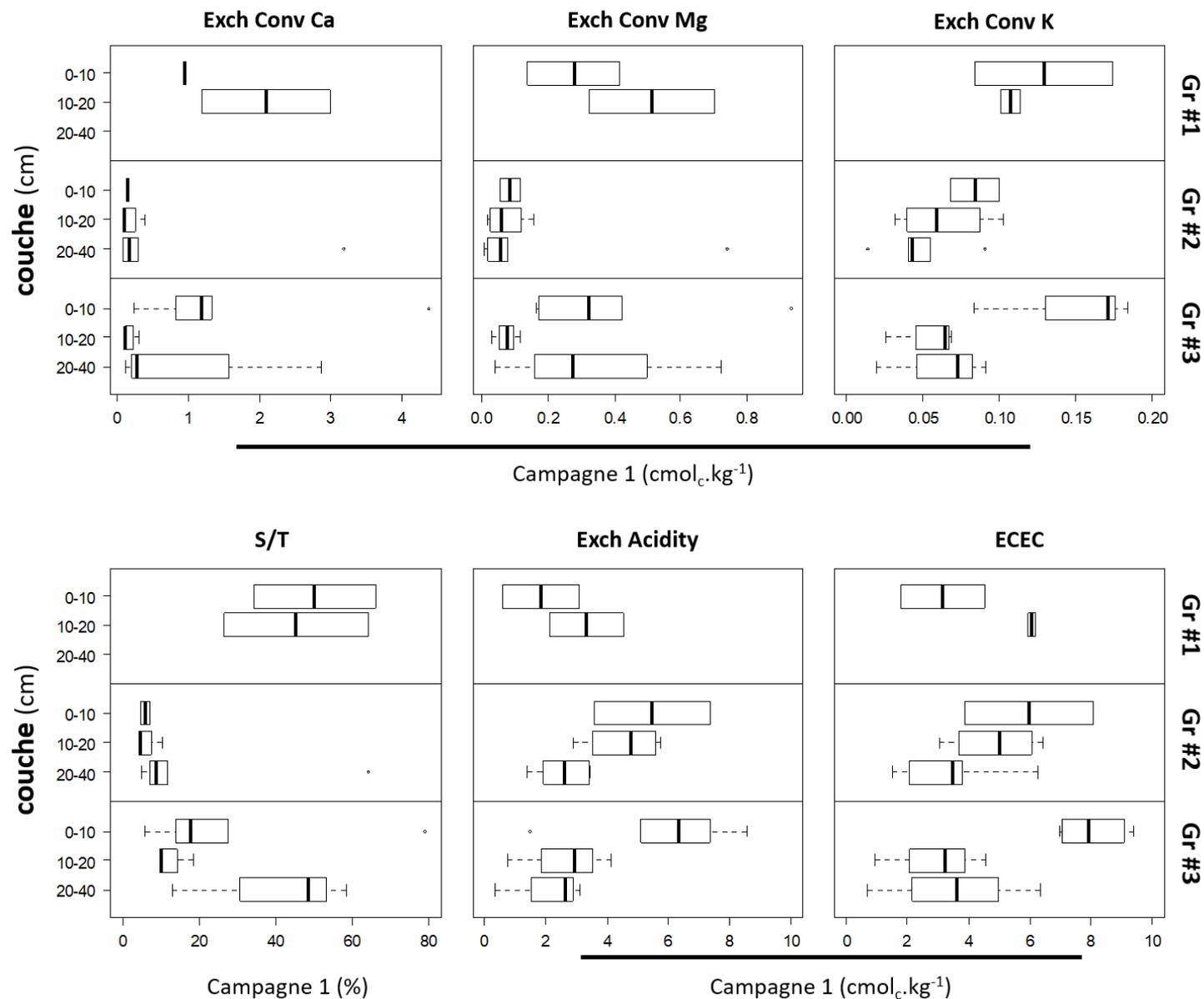
Ces horizons semblent s'être acidifiés au cours du temps : le pH_{eau} a en moyenne diminué (**Fig V-2**). Il semblerait que cette acidification n'ait pas été accompagnée d'une perte nette de cations nutritifs échangeables (le S/T est resté stable ; **Fig V-3**) puisque ceux-ci étaient déjà très peu abondants dans la composition des pools de cations échangeables. Cependant, il est aussi probable que des sources d'entrée de ces cations aient permis de compenser les flux de sorties :

Calcium

La diminution des pools de Ca extractible par la méthode HNO_3 ainsi que la légère diminution des pools de Ca isotopiquement échangeable dans l'extraction HNO_3 suggère que les phases contenant du Ca disponible et extractible avec un acide fort ont contribué à tamponner les pools échangeables de Ca (**Fig. V-4**). Pour ce groupe 2 d'échantillons de sol, les contributions relatives des pools HNO_3 de Ca aux pools E_{Ca} étaient aussi très supérieures comparées aux échantillons de sols des groupes 1 et 3 (**Fig V-8**). Le groupe 2 est aussi composé d'échantillons de sol qui, pour la plupart, avaient une quantité non négligeable de Ca extractible par la méthode nitrique (Campagne 1 ; **Fig V-6**). La contribution de ces pools géochimiquement réactifs, autres que les pools échangeables conventionnels, a donc vraisemblablement été suffisante pour maintenir les pools échangeables conventionnels de Ca pour la majorité des échantillons de ce groupe 2.

De manière similaire aux observations faites pour le groupe 3, une augmentation de la teneur en carbone (**Fig V-5**) ainsi qu'une augmentation des pools échangeables de Ca, Mg et K ont aussi été observées dans les horizons de surface 0-10 cm du groupe 2 (**Fig V-3**). Pour le calcium, cette augmentation s'est aussi accompagnée d'une augmentation du pool de Ca extractible par la méthode nitrique (**Fig V-4**). A contrario, dans les horizons plus profonds (20-40 cm), une diminution à la fois du pool échangeable conventionnel de Ca (**Fig V-3**) et de Ca extractible par la méthode HNO_3 a été observée. L'ensemble de ces résultats souligne le rôle que jouent les phases porteuses de Ca et extractible par la méthode nitrique dans le pool source/puits de Ca du sol.

Figure V-7. Distribution pour les trois groupes et en fonction de la profondeur, des valeurs de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca, Exch Conv Mg et Exch Conv K) ainsi que du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange (Exch_{acidity}) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 ont été retirés de ces figures.



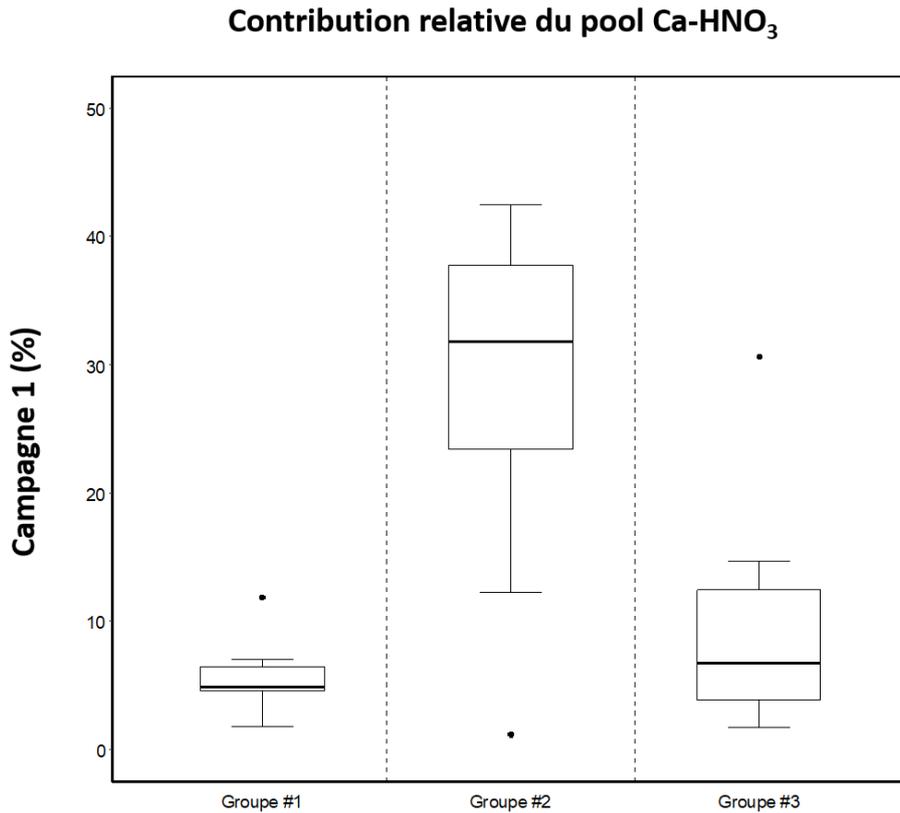


Figure V-8. Distribution pour les trois groupes, de la contribution relative du pool nitrique de Ca au pool E_{Ca} initial (valeurs de la campagne 1). Pour cette figure, le site EPC63 a été retiré du jeu de données.

Magnésium et potassium

L'augmentation, en moyenne et en général, des pools de Mg et K extractibles à l'acide nitrique ainsi que des pools $Exch_Conv_{Mg}$ et $Exch_Conv_K$ (**Fig V-3** et **Fig V-4**) suggèrent une accumulation et un stockage de Mg et K dans les phases échangeables mais également dans des phases secondaires non cristallines. Cette accumulation à la fois dans les phases échangeables et non échangeables conventionnelles pourrait être expliquée par un flux d'entrée net de ces deux cations à travers un flux d'altération. Les sols de la première campagne du groupe 2 avaient d'importants pools de Mg, K, Na et Si extractibles à l'acide nitrique (**Fig V-6**) ce qui suggère un potentiel d'altération minérale dans ces sols. La différence de dynamique observée entre d'une part le calcium et d'autre part le Mg et K, pourrait être expliquée par une différence de richesse minéralogique, si les minéraux du sol contiennent relativement plus de Mg et de K que de Ca. Sur le site EPC08 (dont les trois horizons de sol ont été classés dans le groupe 2), le

flux d'altération minéral a été estimé à 37 mol.ha⁻¹.an⁻¹ pour le Ca, 86 mol.ha⁻¹.an⁻¹ pour le Mg et 138 mol.ha⁻¹.an⁻¹ pour le K.

Nos résultats semblent montrer que des phases minérales secondaires et non cristallines ont permis de maintenir la biodisponibilité du Ca des sols du groupe 2 et de stocker des pools de Mg et K libérés par altération. Toutefois, ces échantillons de sol représentent des conditions de fertilité à l'origine peu élevées et malgré des réserves de Ca, Mg et K dans des phases secondaires non cristallines, permettant le maintien des niveaux de ces cations sur le complexe d'échange, l'équilibre peut être fragile. Ces phases sources/puits sont susceptibles de s'appauvrir et ne plus pouvoir contribuer à tamponner suffisamment les pertes de cations nutritifs, notamment pour le Ca.

3.3. Dégradation de la fertilité : Groupe 1

Ce sous-ensemble regroupe des échantillons de sol avec des propriétés physico-chimiques du sol très variées et dont les évolutions observées au cours du temps ont probablement des origines/explications très différentes.

Le site EPC63 se distingue franchement dans ce sous-ensemble ainsi que dans l'ensemble des 11 sites. Tout d'abord, le taux de saturation de la CEC a diminué de manière significative sur l'ensemble des 3 horizons prélevés (**Tabl V- 1**) et les diminutions de S/T étaient les plus grandes sur l'ensemble du jeu de données. Les augmentations de l'acidité d'échange et de l'aluminium échangeable étaient aussi les plus grandes observées sur l'ensemble du jeu de données et significatives pour les 3 horizons prélevés. Le type de sol sur le site d'EPC63 (Mollic Andosol) est aussi différent des autres sites et il est probable que les dynamiques observées sur ce site soient expliquées par son substrat géologique (Scories basaltiques et trachytiques) qui est très différent des autres sites. De très grands pools de soufre ont été mesurés dans les échantillons de sol d'EPC63 durant la campagne 1 (**Fig V-9**) et ces pools ont aussi très fortement diminué entre les deux campagnes. Il a été montré que la dynamique du soufre dans les andosols est très différente des autres types de sol (Delfosse et al. 2005). En présence d'une concentration élevée de sulfate des minéraux tels que l'alunite [KAl₃(SO₄)₂(OH)₆], la basaluminite [Al₄SO₄(OH)₁₀.5(H₂O)] et la jurbanite [AlSO₄OH.5(H₂O)] peuvent précipiter et s'accumuler

dans le sol. Comme pour de nombreux sites, depuis les années 1980, les dépôts atmosphériques de soufre ont fortement diminué. Le suivi des dépôts atmosphériques sur le site EPC63 confirme que les dépôts ont diminué depuis l'installation du site en 1993. Il est donc probable que, maintenant que la concentration en soufre dans les solutions du sol a diminué, les minéraux contenant du sulfate se dissolvent, libérant leur sulfate et maintenant ainsi un flux de lixiviation élevé en sulfate. Ce flux de sulfate entraînerait ainsi des pertes élevées de cations nutritifs comme observé entre les deux campagnes de prélèvement de sol. En effet, les minéraux sulfatés qui ont été observés dans les andosols contiennent de l'aluminium mais très peu de cations nutritifs hormis le potassium. La libération d'aluminium par l'altération de ces minéraux explique probablement l'augmentation de l'aluminium échangeable sur ce site (causant la désaturation de la capacité d'échange en calcium et magnésium). En revanche, les pools de potassium échangeable sur ce site sont soit restés stables soit ont augmenté. Cette dynamique est probablement liée à la libération de potassium par altération minérale.

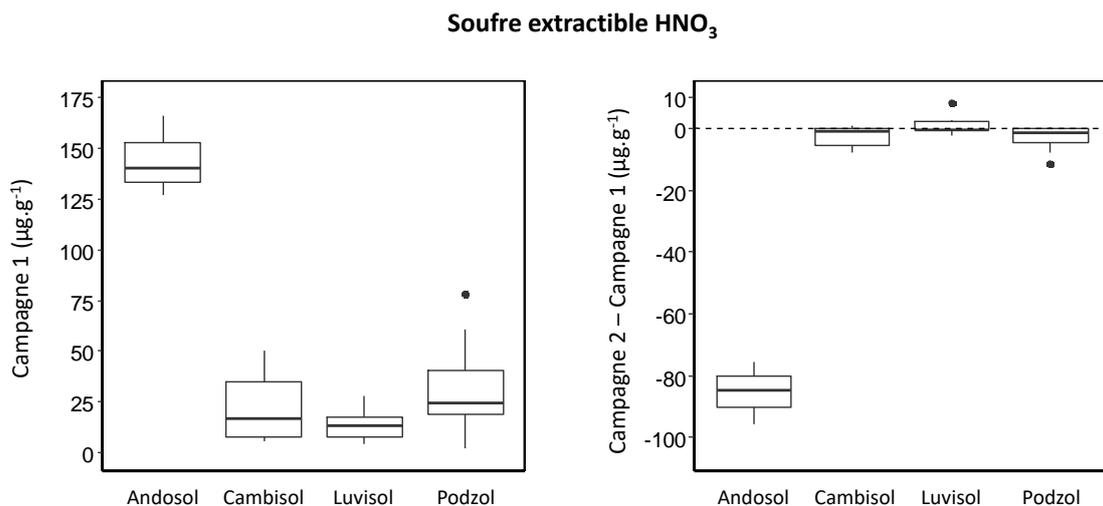


Figure V-9. Comparaison des teneurs en soufre extraites à l'acide nitrique et de leur évolution entre les deux campagnes de prélèvement en fonction du type de sol. Le type de sol andosol n'est représenté que par le site EPC63.

Le site SP57 se distingue également dans ce sous-ensemble puisque les 3 horizons de sol de ce site sont classés dans ce groupe 1 même si les diminutions de S/T n'étaient pas significatives (**Tabl. V-1**). Sur ce site aussi, les dynamiques des cations dans les sols sont pilotées par la dynamique du soufre (van der Heijden et al. 2011). En effet, il a été montré qu'un large pool de sulfate échangeable s'est constitué par l'adsorption du sulfate sur les particules de sols

(essentiellement les (hydr)oxydes de fer et d'aluminium, très abondants dans ce sol acide développé sur Grès vosgien) et ce probablement au cours du XX^{ème} siècle lorsque les dépôts atmosphériques de sulfate d'origine anthropique dans le massif Vosgien étaient très élevés. Maintenant que ces dépôts atmosphériques ont diminué, ce pool de sulfate adsorbé se désorbe, maintenant un flux de lixiviation en sulfate et en cations dans le sol et ainsi, une acidification continue et graduelle du sol.

Le classement des autres échantillons de sol dans le groupe 1 était plus surprenant puisque ces échantillons sont issus de profils de sol dont les autres horizons sont classés dans le groupe 3 et pour lesquels une amélioration de la plupart des indicateurs de fertilité chimique du sol a été observée (**Tabl V-1**). Par exemple, l'horizon 10-20 cm du site CHP59 se retrouve selon le système de classification choisi dans le groupe 1 alors que les horizons 0-10 cm et 20-40 cm de ce même site sont classés dans le groupe 3. Puisque la diminution du S/T dans cet horizon est très faible (- 1.6% ; **Tabl V-1**) et non significative, il est probable que la fertilité chimique de cet horizon ne se soit pas dégradée entre les deux campagnes. Le même raisonnement est applicable à l'horizon 10-20 cm du site HET64. Par contre, pour les horizons 0-10 cm des sites CHS41 et CPS77, une dégradation de la fertilité chimique semble plus probable même si la diminution du S/T n'était pas statistiquement significative. En effet, une diminution significative du pool échangeable de Ca à CHS41 et une diminution significative du pH_{eau} du sol pour CPS77 ont été observées. Pour ces deux sites, le S/T était relativement élevé lors de la campagne 1 mais la capacité d'échange cationique était relativement faible en comparaison du reste du jeu de données (**Tabl V-2**). De plus, les pools de Ca, Mg et K extraits par la méthode HNO₃ pour ces deux horizons étaient parmi les plus faibles de l'ensemble du jeu de données. Ceci suggère de faibles réserves de Ca, Mg et K stockés dans des phases du sol autres qu'échangeables et un faible potentiel d'altération minérale qui pourrait expliquer pourquoi ces horizons de sol voient leur fertilité chimique se dégrader entre les deux campagnes. Cette dégradation, même légère, est néanmoins surprenante puisque les pools échangeables de Ca, Mg et K ont augmenté dans les horizons 10-20 cm et 20-40 cm de ces deux sites : il est surprenant que, dans un tel contexte, le niveau de fertilité chimique de l'horizon de surface ne soit pas au moins maintenu ou amélioré par le cycle biologique des cations nutritifs qui permet d'accumuler les nutriments dans les horizons superficiels.

D'une manière générale et en écartant le site EPC63, les échantillons de sol du groupe 1 ont des richesses minéralogiques faibles. Les pools d'éléments extractibles à l'acide nitrique, qui représentent des phases minérales secondaires amorphes ou des minéraux primaires facilement altérables, sont relativement faibles (**Fig. V-6**). De plus, bien que les pools isotopiquement échangeables de Ca (E_{Ca}) soient plus importants pour les échantillons de sol du groupe 1, les contributions relatives d'autres formes que l'échangeable conventionnel aux pools E_{Ca} sont plus faibles ($< 10\%$; **Fig V-8**). Cette distribution des pools de Ca explique probablement les évolutions du S/T dans ce groupe puisque le S/T est principalement lié à la désaturation du Ca et dans une moindre mesure de Mg sur le complexe d'échange.

Que les pools échangeables de Ca et dans une moindre mesure de Mg diminuent alors que les pools échangeables de K augmentent pourrait indiquer que des phases du sol plus spécifiques aux Ca et Mg sont en jeu. Les résultats montrent une légère diminution de la capacité d'échange cationique (CEC) (**Fig V-3**) qui est probablement liée à la diminution du pH_{eau} . En effet, les sites d'échange à charges variables sont influencés par les conditions de pH. Ainsi, l'acidification a pu favoriser la protonation des groupements fonctionnels des composés organiques (e.g. hydroxyl, carboxyl) et rendre ces sites inaccessibles à l'échange. Comme les matières organiques ont une plus forte affinité pour le Ca comparativement au Mg et K, la diminution de CEC de la fraction organique pourrait avoir préférentiellement impacté le Ca. Une autre hypothèse pouvant expliquer les différences d'évolutions des pools échangeables conventionnels entre le Ca et K est, que la balance entre les flux d'entrée et de sortie soit négative pour le Ca et positive pour le K.

Calcium

La diminution du pool de Ca extractible par la méthode HNO_3 ainsi que diminution du pool de Ca isotopiquement échangeable dans l'extraction HNO_3 pourrait suggérer une libération de Ca provenant de phases non cristallines par des processus d'échange avec la fraction géochimiquement réactive du pool nitrique d'une part et par des processus d'altération de minéraux primaires et/ou secondaires porteuses de Ca d'autre part. Toutefois, ces entrées ne semblent pas avoir permis de maintenir les niveaux de fertilité. Pour le groupe 1, les pools HNO_3 de Ca étaient à l'origine déjà faibles, ce qui pourrait expliquer que les capacités de ces échantillons de sol à maintenir les niveaux de fertilité étaient initialement restreintes.

Potassium

L'augmentation des pools échangeables conventionnels de K ainsi que du pool de K extractible par la méthode HNO_3 entre les deux campagnes (**Fig V-3 et Fig V-4**) suggère un stockage de K dans les phases échangeables (capacité d'échange cationique) et dans des phases minérales secondaires non cristallines. Il est vraisemblable que du K ait été adsorbé sur des sites spécifiques soit au bord de feuillets d'argiles altérés (frayed edge sites) soit incorporé à l'intérieur des interfeuillets d'argiles (K-interfoliaire). Cette accumulation à la fois dans les phases échangeables conventionnelles et dans les phases non cristallines suggère un flux d'entrée de K très probablement à travers un flux d'altération. Le potassium est de manière générale plus abondant dans les minéraux primaires et secondaires du sol comparé au calcium et au magnésium. Par exemple, sur le site SP57, le flux d'altération a été estimé à $7.5 \text{ mol} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ pour le Ca, $12.3 \text{ mol} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ pour le Mg et $158.5 \text{ mol} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ pour le K (van der Heijden et al. 2011). L'acidification observée pour les échantillons de sol du groupe 1 pourrait avoir facilité les processus d'altération (acidolyse). Malgré des pools de K extractible par la méthode HNO_3 relativement faibles, ces flux d'altération sont susceptibles d'avoir compensé et excédé les pertes de K par les différents flux de sorties (prélèvement par la plante, drainage profond).

Site	HOR cm	pH_eau	pH_CaCl2	CEC cmol _c .kg ⁻¹	S/T %	Exch Ca cmol _c .kg ⁻¹	Exch K cmol _c .kg ⁻¹	Exch Mg cmol _c .kg ⁻¹	Exch Acidity cmol _c .kg ⁻¹	Exch Al cmol _c .kg ⁻¹	Exch H cmol _c .kg ⁻¹	C g.kg ⁻¹
CHP 59	0--10	4,26	3,63	7,06	27,4	1,34	0,18	0,42	5,13	4,67	0,46	2,99
CHP 59	10--20	4,46	3,76	6,16	26,2	1,19	0,10	0,32	4,54	4,19	0,36	1,81
CHP 59	20--40	4,96	4,09	6,34	58,2	2,87	0,09	0,72	2,65	2,39	0,26	0,97
CHS 41	0--10	4,40	3,72	4,51	34,1	0,95	0,17	0,42	2,97	2,50	0,47	4,21
CHS 41	10--20	4,37	3,84	3,22	9,5	0,12	0,07	0,12	2,91	2,62	0,29	1,36
CHS 41	20--40	4,49	3,81	3,59	13,0	0,12	0,07	0,28	3,13	2,91	0,21	0,65
CPS 77	0--10	4,64	3,98	1,77	66,0	0,95	0,08	0,14	0,60	0,42	0,18	2,20
CPS 77	10--20	4,69	4,16	0,92	18,3	0,11	0,03	0,03	0,75	0,69	0,06	0,50
CPS 77	20--40	5,06	4,47	0,68	48,5	0,27	0,02	0,04	0,35	0,31	0,05	0,25
EPC 08	0--10	3,84	3,36	8,09	4,5	0,15	0,10	0,12	7,72	6,70	1,03	5,06
EPC 08	10--20	4,32	3,99	4,31	4,0	0,09	0,05	0,03	4,13	3,84	0,29	2,20
EPC 08	20--40	4,47	4,38	2,07	6,9	0,08	0,04	0,02	1,93	1,81	0,12	1,43
EPC 63	0--10	4,36	4,22	7,46	43,9	2,39	0,21	0,67	4,19	4,11	0,08	13,84
EPC 63	10--20	5,08	4,67	2,99	67,7	1,62	0,09	0,31	0,97	0,89	0,07	8,00
EPC 63	20--40	5,76	5,03	3,00	91,5	2,26	0,06	0,42	0,25	0,17	0,08	5,68
EPC 87	0--10	4,19	3,58	9,09	5,8	0,23	0,13	0,16	8,56	7,83	0,73	7,88
EPC 87	10--20	4,42	3,90	5,70	4,4	0,10	0,07	0,08	5,45	5,01	0,44	4,62
EPC 87	20--40	4,55	4,13	3,58	5,0	0,09	0,04	0,05	3,40	3,13	0,28	3,37
HET 30	0--10	4,31	3,71	9,41	17,8	1,19	0,17	0,32	7,73	7,21	0,52	9,77
HET 30	10--20	4,50	3,94	6,42	10,2	0,40	0,10	0,16	5,76	5,57	0,19	6,07
HET 30	20--40	4,70	4,23	3,82	9,3	0,22	0,06	0,08	3,46	3,36	0,10	5,14
HET 64	0--10	4,94	4,30	6,99	78,8	4,39	0,18	0,93	1,48	1,33	0,15	2,85
HET 64	10--20	4,83	4,18	5,94	64,1	2,99	0,11	0,70	2,13	2,04	0,09	1,42
HET 64	20--40	4,88	4,20	6,26	64,1	3,18	0,09	0,74	2,24	2,18	0,06	0,98
PS 67a	0--10	3,99	3,30	3,89	7,0	0,15	0,07	0,05	3,62	2,68	0,93	3,36
PS 67a	10--20	4,23	3,85	3,02	4,4	0,08	0,03	0,02	2,89	2,44	0,44	1,69
PS 67a	20--40	4,55	4,37	1,52	7,9	0,10	0,01	0,01	1,40	1,21	0,18	1,15
SP 38	0--10	4,24	3,59	7,90	13,8	0,83	0,08	0,17	6,81	6,02	0,79	3,62
SP 38	10--20	4,51	3,92	4,57	9,9	0,31	0,06	0,08	4,12	3,73	0,39	2,49
SP 38	20--40	4,65	4,08	3,34	11,6	0,28	0,05	0,06	2,95	2,71	0,24	1,96
SP 57	0--10	4,21	3,61	3,22	15,9	0,38	0,07	0,07	2,71	2,13	0,57	2,16
SP 57	10--20	4,51	3,94	2,42	12,5	0,24	0,03	0,03	2,12	1,77	0,35	1,31
SP 57	20--40	4,74	4,31	1,37	16,3	0,19	0,02	0,01	1,14	0,96	0,18	0,82

Tableau V-2. Valeurs des propriétés chimiques de la première campagne de prélèvement des 11 sites du réseau RENECOFOR.

3.4. Comparaison de différentes approches d'estimations des pools de Ca, Mg et K en équilibre avec la solution du sol et de leurs évolutions.

Dans cette étude, trois méthodes différentes ont été déployées pour estimer le pool source/puits de Ca, Mg et K dans les sols et étudier comme ce pool a évolué entre les deux campagnes de prélèvement sur chacun des sites sélectionnés pour cette étude : le pool échangeable conventionnel, le pool échangeable expérimental et le pool isotopiquement échangeable. Dans cette partie, ces trois approches seront comparées afin de mieux comprendre les liens et les différences entre ces méthodes. Les résultats d'une précédente étude ((Bel et al. 2020); **chapitre 4**), suggéraient que la méthode de dilution isotopique était l'approche la plus adaptée pour mesurer les pools source/puits de Ca, Mg et K sur un panel de sol couvrant des conditions édaphique et climatique contrastées. La mesure des pools isotopiquement échangeables permet en effet de quantifier plus précisément l'ensemble des réservoirs de Ca, Mg et K qui contribuent directement à l'équilibre géochimique entre la phase solide et liquide du sol et qui se rapprochent donc le plus de la mesure du pool disponible à la plante. Bien que les autres pools mesurés par les deux autres approches ne reflètent que de manière incomplète le pool biodisponible, la comparaison de ces trois indicateurs est pertinente pour mieux comprendre comment les phases du sol autres que le pool échangeable conventionnel contribuent aux évolutions de la fertilité chimique du sol au cours du temps.

3.4.1. Comparaison de la taille des pools extraits

La comparaison des pools de Ca, Mg et K mesurés par les trois différentes méthodes montre des réponses différentes en fonction des trois éléments (**Fig V-10**). Pour le calcium, les trois approches (pool échangeable conventionnel, expérimental et isotopiquement échangeable) étaient relativement proches pour la plupart des échantillons du jeu de données. Cependant, pour les échantillons avec les plus faibles teneurs en Ca (pool Exch_Conv_{Ca} inférieur à 0.5 cmolc.kg⁻¹), le pool échangeable conventionnel était inférieur au pool échangeable expérimental et au pool isotopiquement échangeable. La similitude entre les trois différentes méthodes est surprenante puisqu'il avait été démontré que les pools isotopiquement échangeables étaient en moyenne et en général supérieurs aux pools échangeables conventionnels ((Bel et al. 2020); **chapitre 4**).

Le pool échangeable conventionnel dans le jeu de donnée utilisé dans la présente étude a été mesuré après une extraction avec une solution de chlorure de baryum. Le baryum, tout comme le calcium, fait partie de la famille des alcalino-terreux. Il se situe dans la même colonne du tableau périodique que le calcium et par conséquent possède des structures électroniques analogues au calcium. Comparé à d'autres réactifs utilisés pour réaliser des extractions de cations échangeables, il est probable que le baryum ait une affinité plus forte pour les sites d'échange cationique et en particulier pour les sites d'échange développés par la matière organique du sol. Il a été montré que des pools de Ca adsorbé sur des matières organiques du sol contribuaient directement au pool source/puits de Ca dans le sol mais n'étaient pas extractibles par les méthodes conventionnelles de mesure du Ca échangeable (Bel et al. 2020). Les résultats présentés dans la **figure V-10** suggère que le chlorure de baryum est capable d'extraire une grande partie du Ca isotopiquement échangeable adsorbé sur la matière organique du sol expliquant ainsi pourquoi la mesure des pools échangeables par le $BaCl_2$ puisse être très proche de la mesure des pools isotopiquement échangeables pour un très grand nombre d'échantillons du jeu de données.

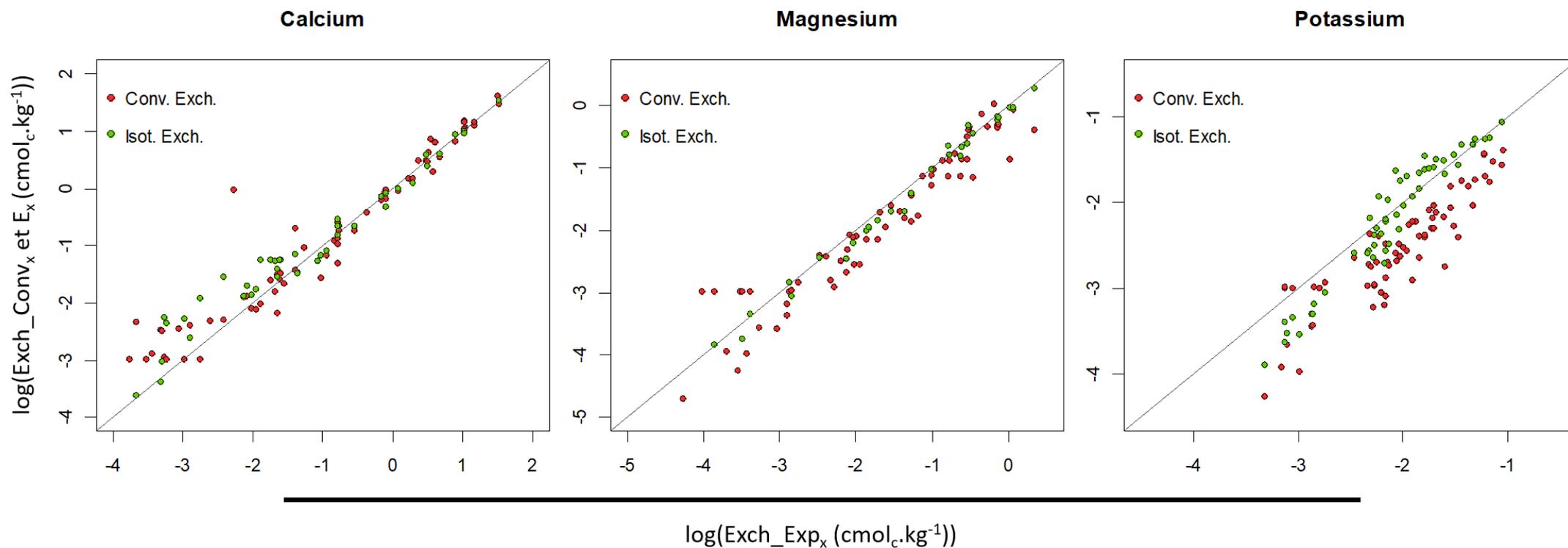


Figure V-10. Comparaison des pools échangeables expérimentaux (Exch_Exp_x) aux pools isotopiquement échangeables (E_x en vert) et aux pools échangeables conventionnels (Exch_Conv_x en rouge). Les axes ont subi une transformation logarithmique.

Contrairement au calcium, la comparaison des pools de Mg et K mesurés par les trois différentes méthodes sont en accord avec les résultats obtenus précédemment : le pool échangeable conventionnel est inférieur au pool isotopiquement échangeable. En contraste, le pool échangeable expérimental était très proche du pool isotopiquement échangeable. Bien que les deux approches conventionnelle et expérimentale pour mesurer le pool échangeable de K diffèrent sur de nombreux aspects (réactifs, temps de contact, extraction préliminaire du « potassium soluble »), il est probable que les différents pools observés pour ces deux méthodes s'expliquent avant tout par le réactif utilisé pour les extractions : BaCl₂ pour le pool conventionnel et acétate d'ammonium pour le pool expérimental. En effet, de nombreux sites d'échanges sont spécifiques au K (*e.g.* frayed edge sites, K-interfoliaire) et le rayon d'hydratation du baryum est trop grand pour lui permettre de s'échanger avec du K situé sur ces sites d'échanges. Comparativement, le rayon d'hydratation de l'ion NH₄⁺ est plus faible, lui conférant une plus grande capacité pour extraire le potassium des sites spécifiques au K. Il est plus que probable que la différence entre les deux approches réside dans la capacité de l'acétate d'ammonium à extraire, en plus des sites non spécifiques, le K des sites spécifiques.

La capacité de l'ammonium à extraire le potassium adsorbé sur des sites d'échanges spécifiques pourrait aussi expliquer pourquoi les pools échangeables expérimentaux étaient relativement proches des pools isotopiquement échangeables. Dans une précédente étude (Bel *et.al.* 2020), il a été montré que d'autres phases du sol que celle conventionnellement admise comme étant échangeable, contribuaient aux équilibres géochimiques avec la solution du sol. L'identification des phases sources/puits additionnelles de K a mis en évidence la contribution de sites spécifiques au K.

Pour un certain nombre d'échantillons de sol, les pools échangeables conventionnels de magnésium étaient aussi inférieurs aux pools isotopiquement échangeables alors que les pools échangeables expérimentaux étaient similaires aux pools isotopiquement échangeables. Bien que ces résultats soient en accord avec les résultats obtenus sur une population plus vaste d'échantillons de sol (Bel et al 2020 ; chapitre 4), il est tout de même surprenant que les pools échangeables de Mg extraits avec l'acétate d'ammonium (pools expérimentaux) soient supérieurs aux pools extraits au BaCl₂ (pools conventionnels). Comme discuté précédemment, puisque le baryum semble être un réactif efficace pour extraire le calcium échangeable et

adsorbé sur les matières organiques du sol, il serait attendu que le baryum soit un réactif tout aussi efficace pour extraire le Mg puisque la sélectivité du Ca pour les sites d'échanges cationiques est soit comparable à celle du Mg pour les sites d'échanges d'origine minérale soit supérieure pour les sites d'échanges d'origine organique. Pour expliquer ces résultats, nous pouvons faire l'hypothèse que, dans certains sols, le magnésium s'adsorbe sur des sites d'échanges cationiques spécifiques au Mg. Ces résultats soulignent aussi une nouvelle fois que les dynamiques du calcium sont très différentes de celles du magnésium.

3.4.2. Comparaison de l'évolution des différents pools extraits au cours du temps

Calcium

Pour le calcium, l'évolution des pools déterminés par les trois différentes méthodes était similaire (**Fig V-11**) pour les groupes d'échantillons 1 et 3. Pour rappel, ces deux groupes étaient aussi les groupes pour lesquels une majorité d'échantillons présentait des teneurs élevées en calcium échangeable. Puisque les 3 pools (conventionnel, expérimental et isotopiquement échangeable) étaient très similaires pour les échantillons avec les plus fortes teneurs en calcium échangeable (**Fig V-10**), il n'est pas surprenant que l'évolution de ces 3 pools soit similaire. En revanche, bien que les différences entre les 3 méthodes étaient faibles pour le groupe 2, l'évolution des pools échangeables conventionnels suggère que ces sols s'appauvrissent en calcium disponible tandis que les deux autres indicateurs suggèrent que ces pools sont restés stables ou ont augmenté. Cette différence s'explique probablement par le fait que les sols du groupe 2 ont des faibles teneurs en calcium échangeable et que, pour ces faibles valeurs, les pools échangeables conventionnels étaient inférieurs aux pools échangeables expérimentaux et isotopiquement échangeable (**Fig V-10**).

Potassium

De manière similaire, pour le potassium, la différence observée entre les évolutions des pools mesurés (**Fig V-11**) pourrait être expliquée par les différences entre les trois méthodes pour mesurer les pools source/puits (**Fig V-10**). Comme discuté précédemment, il est probable que l'extraction du potassium échangeable avec le $BaCl_2$ n'inclut pas les pools de potassium adsorbé sur les sites spécifiques au potassium. La comparaison de l'évolution des trois pools de

K suggère que les pools de K des sites spécifiques contribuent substantiellement aux évolutions des pools disponibles de K au cours du temps.

- Pour le groupe 1 (dégradation de la fertilité), la diminution des pools $Exch_Exp_K$ et E_K , tandis que les pools $Exch_Conv_K$ augmentent entre les deux campagnes, suggère que le pool de K adsorbé sur des sites spécifiques ont diminué. Ce flux net de désorption a peut-être contribué à augmenter les stocks échangeables conventionnels de K (**Fig V-12**).
- Les échantillons de sol du groupe 2 étaient caractérisés par de faibles niveaux de fertilité chimique. Les résultats montrent par ailleurs, que pour les plus faibles concentrations de K ($< 0.1 \text{ cmol}_c.\text{kg}^{-1}$), les pools $Exch_Exp_K$ ne semblent plus être d'aussi bons indicateurs des pools E_K (pool $Exch_Exp_K < E_K$) (**Fig V-10**). Il est probable que dans ces sols les plus pauvres, il puisse y avoir des phases du sol qui ne sont pas extractibles avec une extraction à l'acétate d'ammonium ou que des phases secondaires nécessitant une dissolution pour devenir disponible soient impliquées dans la dynamique du potassium sur le moyen terme pour ces horizons de sol. Cette hypothèse pourrait expliquer la divergence d'évolutions entre les pools E_K (augmentation) et $Exch_Exp_K$ (stabilité voir légère diminution).

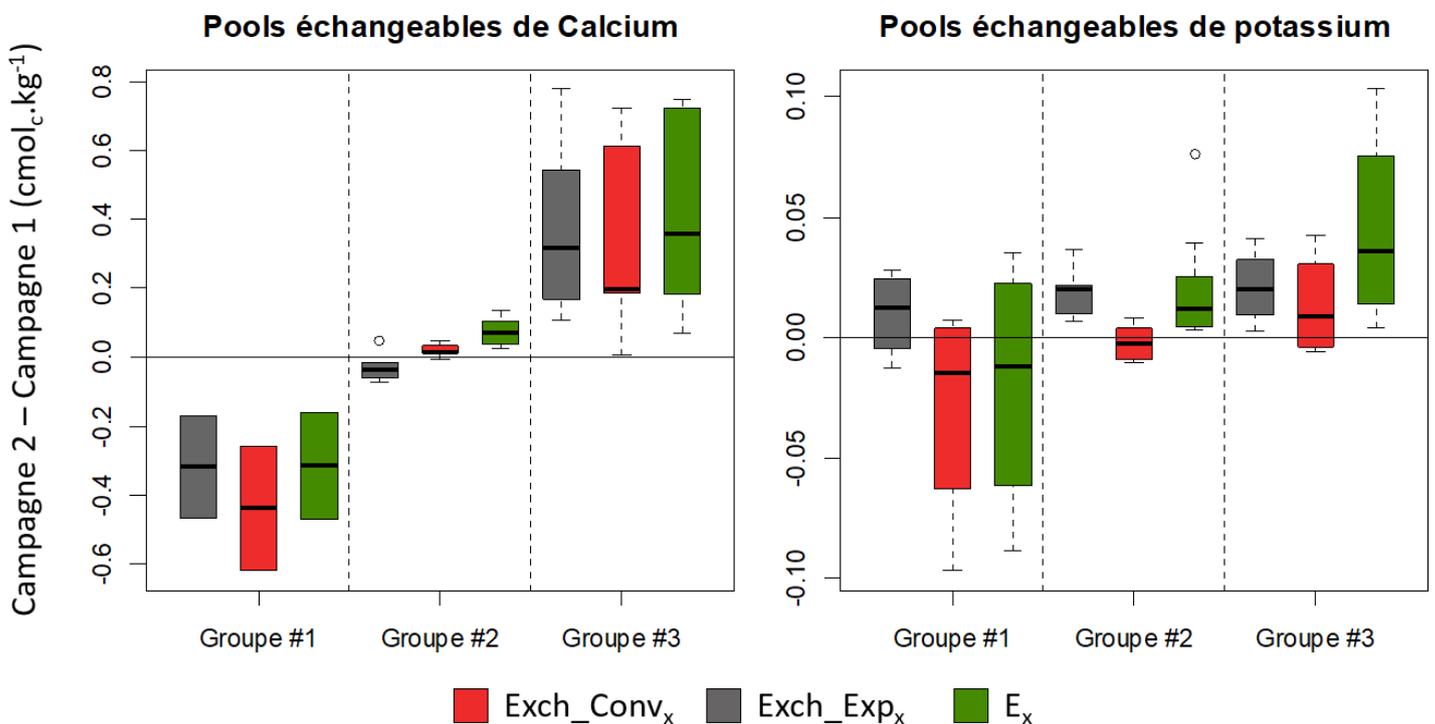


Figure V-11. Evolution entre les deux campagnes des pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$ rouge), expérimentaux ($Exch_Exp_x$ gris foncé) et isotopiquement échangeable (E_x en vert) de Ca et K en fonction du groupe. Les jeux de données utilisés pour ces figures ont été restreints aux échantillons de sols possédant des valeurs de pools isotopiquement échangeables de Ca et K respectivement (population d'échantillons comparables).

Magnésium

Pour le magnésium, la comparaison des évolutions de pools disponibles de Mg entre les trois approches n'a pas été rendue possible en raison du manque de données de pools isotopiquement échangeables (E_{Mg}). Néanmoins, pour les deux autres approches, il a été observé que les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_{Mg}$) étaient plus grands que les pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_{Mg}$) de Mg et s'approchaient plus d'une mesure de pool E_{Mg} (**Fig V-10**). Cette différence entre les deux approches résulte très probablement du fait que la taille des pools mesurés est différente en fonction de la méthode. En effet, la nature du réactif et le protocole utilisés pour extraire les pools échangeables de Mg entre une extraction au chlorure de baryum pour les pools $Exch_Conv_{Mg}$ et la double extraction à l'acétate d'ammonium pour les pools $Exch_Exp_{Mg}$, sont susceptibles d'avoir des potentialités d'extraction différentes. Ceci pourrait expliquer les raisons des différences d'évolutions de pools échangeables de Mg observées entre ces deux approches (**Fig V-12**).

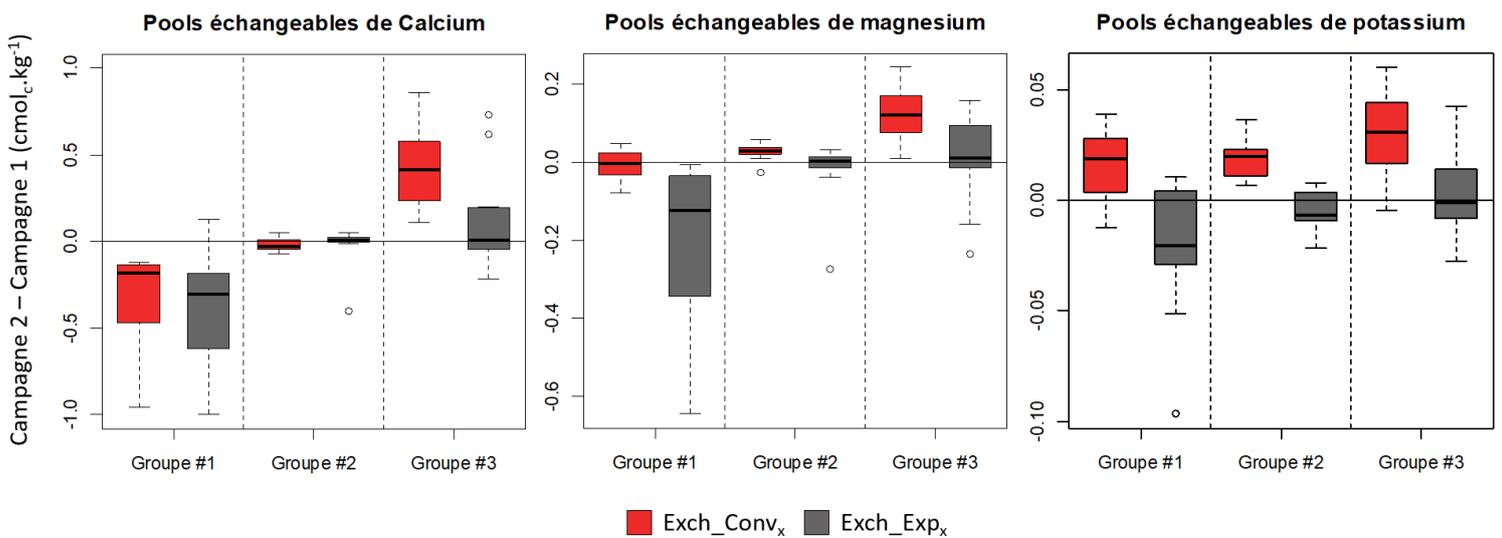


Figure V-12. Evolution entre les deux campagnes de prélèvement des pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$ rouge) et expérimentaux ($Exch_Exp_x$ gris foncé) de Ca, Mg et K en fonction du groupe.

4. Conclusion

Les résultats ont montré la pertinence du couplage entre les deux approches, conventionnelle et isotopique, dans l'étude des pools et des flux de cations dans les écosystèmes forestiers. L'étude de l'évolution de la fertilité chimique des sols de 11 sites du réseau RENECOFOR a permis de mettre en évidence des évolutions contrastées et d'évoquer des facteurs explicatifs plausibles des différences observées entre les deux approches.

- Des évolutions marquées par une amélioration de la fertilité chimique des sols. Les résultats des approches conventionnelles et isotopiques suggèrent une amélioration dans les pools échangeables conventionnels mais également à un stockage dans des phases du sol autres qu'échangeables. Ces résultats soulignent le rôle actif des phases non extractibles par les méthodes conventionnelles au stockage de cations lorsque leur disponibilité dans le sol augmente contribuant ainsi à leur maintien sur le moyen à long-terme dans le système sol-plante.
- Des évolutions marquées par une dégradation de la fertilité chimique des sols. Ce constat fut notamment remarquable pour deux sites (SP57 et EPC63) dont l'ensemble des horizons étaient marqué par une dégradation. Bien que ces sites soient caractérisés par des substrats géologiques et des types de sol différent, les résultats suggèrent que leur dégradation est liée à la dynamique du soufre en lien avec les évolutions des dépôts atmosphériques.
- Des évolutions marquées par une stabilité de la fertilité chimique des sols entre les campagnes. Les résultats suggèrent notamment pour le Ca, que des pools du sol non-extractible par les méthodes conventionnelles ont joué un rôle actif dans le maintien des niveaux de pool de Ca échangeables.

Le système de classification de cette étude, a été construit à partir de l'évolution d'un seul indicateur : le taux de saturation. L'attribution des échantillons dans chaque groupe d'évolution est alors dans certains cas à nuancer. Bien que certains échantillons aient été attribués à un groupe selon le critère du taux de saturation, d'autres indicateurs de sol tendent à suggérer des évolutions parfois contraires. Ces résultats suggèrent que ces horizons de sols sont en « transition » vers une amélioration, une dégradation ou une stabilité de leur fertilité chimique.

Cette étude sur 11 sites du réseau RENECOFOR a aussi permis de démontrer i) que les indicateurs conventionnels et isotopiques montrent globalement les mêmes tendances, ii) que les pools isotopiquement échangeables et non-extractible par l'acétate d'ammonium jouent un rôle dynamique de source et de puits de Ca, Mg et K et enfin iii) que la comparaison des deux approches permet de mieux caractériser quelles phases porteuses de Ca, Mg et K jouent un rôle dans les tendances observées.

Références

- Achat DL, Deleuze C, Landmann G, et al (2015) Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth - A meta-analysis. *For. Ecol. Manage.* 348:124–141.
- Arrouays D, Ranger J (2014) Quality of forest soils facing global changes. *Rev For Fr* LXVI:15–20. doi: <https://doi.org/10.4267/2042/56261>
- Bailey SW, Horsley SB, Long RP (2005) Thirty Years of Change in Forest Soils of the Allegheny Plateau, Pennsylvania. *Soil Sci Soc Am J* 69:681–690. doi: 10.2136/sssaj2004.0057
- Baize D (2018) Guide des analyses en pédologie, 3e édition.
- Bel J, Legout A, Saint-André L, et al (2020) Conventional analysis methods underestimate the plant-available pools of calcium, magnesium and potassium in forest soils. *Sci Rep* 10:15703. doi: 10.1038/s41598-020-72741-w
- Blume JM, Smith D (1954) Determination of exchangeable calcium and cation-exchange capacity by equilibration with Ca-45. *Soil Sci* 77:9–18.
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, et al (2010) Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: A synthesis. *Ecol Appl* 20:30–59. doi: 10.1890/08-1140.1
- Bormann F., Likens G. (1967) Nutrient Cycling. *Science* (80-) 155:424–429.
- Bowman WD, Cleveland CC, Halada L, et al (2008) Negative impact of nitrogen deposition on soil buffering capacity. *Nat Geosci* 1:767–770. doi: 10.1038/ngeo339
- Citepa (2020) Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France - Format Secten.
- Delfosse T, Elsass F, Delvaux B (2005) Direct evidence of basic aluminium sulphate minerals in an S-impacted Andosol. *Eur J Soil Sci* 56:281–286. doi: 10.1111/j.1365-2389.2004.00675.x
- Denys S, Echevarria G, Leclerc-Cessac E, et al (2002) Assessment of plant uptake of radioactive nickel from soils. *J Environ Radioact* 62:195–205. doi: 10.1016/S0265-931X(01)00163-1
- Ebelhar SA (2008) Labile pool. In: Chesworth W (ed) *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Dordrecht, pp 425–426
- EEA (2020) Air quality in Europe.
- Ericsson K, Huttunen S, Nilsson LJ, Svenningsson P (2004) Bioenergy policy and market development in Finland and Sweden. *Energy Policy* 32:1707–1721. doi: 10.1016/S0301-4215(03)00161-7
- Fardeau JC (2000) Estimation de la biodisponibilité de éléments nutritifs contenus dans les produits organiques résiduels. *Ing - E A T, IRSTEA Ed* 2000 32:15–28.
- Fardeau JC, Hétier JM, Jappe J (1979) Potassium assimilable du sol : identification au comportement des ions isotopiquement diluables. *CR AcadSci* 288:1039–1042.

- Federer CA, Hornbeck JW, Tritton LM, et al (1989) Long-term depletion of calcium and other nutrients in eastern US forests. *Environ Manage* 13:593–601. doi: 10.1007/BF01874965
- Graham ER, Fox RL (1971) Tropical soil potassium as related to labile pool and calcium exchange equilibria Calcium Soil analysis. *Soil Sci* 3:318–322.
- Hamon RE, Bertrand I, McLaughlin MJ (2002) Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry. *Aust J Soil Res* 40:1371–1381.
- Hansson K, Laclau JP, Saint-André L, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 1: Common soil chemical analyses were poor predictors of stand productivity across a wide range of acidic forest soils. *For Ecol Manage* 461:117843. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117843
- Hedin LO, Granat L, Likens GE, et al (1994) Steep declines in atmospheric base cations in regions of Europe and North America. *Nature* 367:351–354.
- Hornbeck JW, Smith CT, Martin QW, et al (1990) Effects of intensive harvesting on nutrient capitals of three forest types in New England. *For Ecol Manage* 30:55–64.
- Johnson J, Graf Pannatier E, Carnicelli S, et al (2018) The response of soil solution chemistry in European forests to decreasing acid deposition. *Glob Chang Biol* 24:3603–3619. doi: 10.1111/gcb.14156
- Jonard M, Fürst A, Verstraeten A, et al (2015) Tree mineral nutrition is deteriorating in Europe. *Glob Chang Biol* 21:418–430. doi: 10.1111/gcb.12657
- Jonard M, Legout A, Nicolas M, et al (2012) Deterioration of Norway spruce vitality despite a sharp decline in acid deposition: A long-term integrated perspective. *Glob Chang Biol* 18:711–725. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02550.x
- Jonard M, Nicolas M, Coomes DA, et al (2017) Forest soils in France are sequestering substantial amounts of carbon. *Sci Total Environ* 574:616–628. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.028
- Kolodny L, Robbins W. (1940) Availability of fixed potassium to plants. *Soil Sci* 49:303–313.
- Landmann G (Guy), Bonneau M (1995) Forest decline and atmospheric deposition effects in the French mountains. Springer
- Lawrence GB, Hazlett PW, Fernandez IJ, et al (2015) Declining Acidic Deposition Begins Reversal of Forest-Soil Acidification in the Northeastern U.S. and Eastern Canada. *Environ Sci Technol* 49:13103–13111. doi: 10.1021/acs.est.5b02904
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2020) Chemical fertility of forest ecosystems. Part 2: Towards redefining the concept by untangling the role of the different components of biogeochemical cycling. *For Ecol Manage* 461:117844. doi: 10.1016/j.foreco.2019.117844
- Legout A, Hansson K, van der Heijden G, et al (2014a) Chemical fertility of forest soils : basic concepts. *Rev For Française* LXVI:21–32.
- Legout A, Richter C, Pousse N, et al (2014b) Compensating for the export of nutrients and restoration of degraded soils.
- Likens GE, Bormann FH, Pierce RS, et al (1977) *Biogeochemistry of a Forested Ecosystem*. Springer US, New York, NY

- Likens GE, Driscoll CT, Buso DC, et al (1998) The biogeochemistry of calcium at Hubbard Brook. *Biogeochemistry* 41:89–173.
- Lövblad G, Persson C, Roos E (2000) Deposition of Base Cations in Sweden. Stockholm - Sweden
- Lucash MS, Yanai RD, Blum JD, Park BB (2012) Foliar Nutrient Concentrations Related to Soil Sources Across a Range of Sites in the Northeastern United States Citation Details. *Soil Sci Soc Am J* 76:674–683.
- Masozera C, Bouyer S (1971) Potassium et calcium labiles dans quelques types de sols tropicaux. In: *Sur l'emploi des radioisotopes et des rayonnements dans la recherche sur les relations sol-plante*. Vienne, p 12
- Nezat CA, Blum JD, Yanai RD, Hamburg SP (2007) A sequential extraction to determine the distribution of apatite in granitoid soil mineral pools with application to weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, NH, USA. *Appl geochemistry* 22:2406–2421.
- Ponette Q, Ranger J, Ottorini JM, Ulrich E (2001) Aboveground biomass and nutrient content of five Douglas-fir stands in France. *For Ecol Manage* 142:109–127. doi: 10.1016/S0378-1127(00)00345-5
- Puech J (2009) *Mise en valeur de la forêt française et développement de la filière bois*. Paris
- Ranger J, Colin-Belgrand M, Nys C (1995) Le cycle biogéochimique des éléments majeurs dans les écosystèmes forestiers. Importance dans le fonctionnement des sols. *Etude Gest des Sols* 2:110–134.
- Ranger J, Turpault MP (1999) Input–output nutrient budgets as a diagnostic tool for sustainable forest management. *For Ecol Manage* 122:139–154. doi: 10.1016/S0378-1127(99)00038-9
- Reeve NG, Sumner ME (1969) Determination of exchangeable calcium in soils by isotopic dilution. *Agrochimophisica* 1:13–18. doi: ISSN : 0302-7112
- Reuss JO, Johnson DW (1986) *Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters*. Springer New York, New York, NY
- Sen Tran T, Giroux M, Fardeau JC (1988) Effects of Soil Properties on Plant-Available Phosphorus Determined by the Isotopic Dilution Phosphorus-32 Method. *Soil Sci Soc Am J* 52:1383–1390. doi: 10.2136/sssaj1988.03615995005200050033x
- Shetaya WH, Osterwalder S, Bigalke M, et al (2017) An Isotopic Dilution Approach for Quantifying Mercury Lability in Soils. *Environ Sci Technol Lett* 4:556–561. doi: 10.1021/acs.estlett.7b00510
- Sparks DL, Huang PM (1985) Physical Chemistry of Soil Potassium. In: Munson RD (ed) *Potassium in Agriculture*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, pp 201–276
- Steiner F, Lana M do C (2018) Contribution of non-exchangeable K in soils from Southern Brazil under potassium fertilization and successive cropping. *Rev Cienc Agron* 49:547–557. doi: 10.5935/1806-6690.20180062
- Sterckeman T, Carignan J, Srayeddin I, et al (2009) Availability of soil cadmium using stable and radioactive isotope dilution. *Geoderma* 153:372–378. doi: 10.1016/j.geoderma.2009.08.026

- Tendille C, Grenier de Ruere J, Barbier G (1956) Echanges isotopiques du potassium peu mobile des sols. *CR AcadSci* 243:87–89.
- Thiffault E, Hannam KD, Paré D, et al (2011) Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environ Rev* 19:278–309. doi: 10.1139/a11-009
- Thomas GW (1982) Exchangeable Cations. In: Page A., Miler R., Kenedy D. (eds) *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, 2nd editio. Agronomy, A Series of Monographs, Vol.9, Part 2 ; American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 159–166
- van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150
- van der Heijden G, Henneron L, Dreyer E (2014a) La gestion de la fertilité des sols forestiers est-elle à un tournant ? Une conclusion transitoire. *Rev For Française* LXVI 4:641–644.
- van der Heijden G, Legout A, Mareschal L, et al (2017) Filling the gap in Ca input-output budgets in base-poor forest ecosystems: The contribution of non-crystalline phases evidenced by stable isotopic dilution. *Geochim Cosmochim Acta* 209:135–148. doi: 10.1016/j.gca.2017.04.018
- van der Heijden G, Legout A, Midwood AJ, et al (2013a) Mg and Ca root uptake and vertical transfer in soils assessed by an in situ ecosystem-scale multi-isotopic (^{26}Mg & ^{44}Ca) tracing experiment in a beech stand (Breuil-Chenue, France). *Plant Soil* 369:33–45. doi: 10.1007/s11104-012-1542-7
- van der Heijden G, Legout A, Nicolas M, et al (2011) Long-term sustainability of forest ecosystems on sandstone in the Vosges Mountains (France) facing atmospheric deposition and silvicultural change. *For Ecol Manage* 261:730–740. doi: 10.1016/j.foreco.2010.12.003
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2013b) Tracing and modeling preferential flow in a forest soil - Potential impact on nutrient leaching. *Geoderma* 195–196:12–22. doi: 10.1016/j.geoderma.2012.11.004
- van der Heijden G, Legout A, Pollier B, et al (2014b) The dynamics of calcium and magnesium inputs by throughfall in a forest ecosystem on base poor soil are very slow and conservative: Evidence from an isotopic tracing experiment (^{26}Mg and ^{44}Ca). *Biogeochemistry* 118:413–442. doi: 10.1007/s10533-013-9941-2
- van Sundert K, Radujković D, Cools N, et al (2020) Towards comparable assessment of the soil nutrient status across scales—Review and development of nutrient metrics. *Glob Chang Biol* 26:392–409. doi: 10.1111/gcb.14802
- Walmsley JD, Godbold DL (2010) Stump harvesting for bioenergy - A review of the environmental impacts. *Forestry* 83:17–38. doi: 10.1093/forestry/cpp028
- Watmough SA, Aherne J, Alewell C, et al (2005) Sulphate, nitrogen and base cation budgets at 21 forested catchments in Canada, the United States and Europe. *Environ. Monit. Assess.* 109:1–36.
- Wickham H (2009) *ggplot2 : Elegant Graphics for Data Analysis*, 1st edn. Springer-Verlag New York

Zaccherio MT, Finzi AC (2007) Atmospheric deposition may affect northern hardwood forest composition by altering soil nutrient supply. *Ecol Appl* 17:1929–1941.

Zasoski R. (1979) Principles of Forest soil fertility. In: *Forest Fertilization Conference* . Alderbrook Inn Union , Washington, pp 2–9

Chapitre VI

Synthèse Générale

Les divergences rapportées dans la littérature entre différents outils de diagnostic de la fertilité chimique des écosystèmes forestiers ont conduit à l'hypothèse que des sources, autres que celles conventionnellement admises comme étant biodisponibles, contribuaient directement aux équilibres géochimiques avec la solution du sol et à la nutrition des arbres. L'ensemble des travaux de cette thèse a permis d'investiguer l'apport d'une approche nouvelle pour quantifier et d'identifier les pools source/puits de Ca, Mg et K dans le sol contribuant à ces réactions d'équilibres chimiques : la méthode de dilution isotopique avec les traceurs isotopiques stables ^{44}Ca , ^{26}Mg et ^{41}K . Cette approche a été déployée sur une très grande population d'échantillons de sols forestiers (26 sites représentant un pool de 177 échantillons de sol individuels) provenant de sites expérimentaux et de suivi en France, Suède, Brésil et Puerto Rico afin de couvrir une large gamme de conditions pédoclimatiques contrastées à l'échelle mondiale.

Ce chapitre de thèse présente une synthèse de l'ensemble des résultats et des discussions permettant de contribuer à une meilleure connaissance et compréhension des pools de Ca, Mg et K ayant un rôle source/puits et contribuant aux équilibres géochimiques entre la phase solide et la solution du sol. Ce chapitre se structure en cinq grandes parties, chacune focalisée sur l'un des cinq objectifs de ce travail de thèse.

1. **La première partie** présente une synthèse des résultats comparant les deux approches expérimentales de dilution isotopique testées dans ce travail de thèse afin de définir l'approche la plus adéquate.
2. **La seconde partie** porte sur la quantification des pools isotopiquement échangeables et la comparaison aux pools mesurés par les analyses de sol conventionnels
3. **La troisième partie** porte sur l'identification des pools source/puits et les phases porteuses de Ca, Mg et K.
4. **Dans la quatrième partie**, est consacrée à l'évolution de la fertilité chimique des sols de 11 sites du réseau RENECOFOR, au travers l'évolution des propriétés physico-chimiques du sol (analyses conventionnelles) et comparée aux évolutions des propriétés des sols mesurées par l'approche isotopique.
5. **La cinquième partie** est consacrée à l'évolution de la fertilité chimique des sols de 11 sites du réseau RENECOFOR, au travers l'évolution des propriétés physico-chimiques du sol (analyses conventionnelles) et comparée aux évolutions des propriétés des sols mesurées par l'approche isotopique.

6. Enfin, dans une dernière partie, les limites de l'approche par dilution isotopique sont abordées et discutées.

1. Comparaison de différentes approches expérimentales pour mesurer le pool isotopiquement échangeable

La mesure du pool isotopiquement échangeable est le résultat de la dilution isotopique des traceurs enrichis dans la solution du sol durant une cinétique d'équilibre élémentaire et isotopique entre la solution et les pools réactifs de Mg, Ca et K dans le sol. L'approche expérimentale choisie pour obtenir cet équilibre isotopique peut donc grandement influencer la mesure du pool isotopiquement échangeable. Dans ce travail de thèse, deux dispositifs expérimentaux différents de mise en équilibre ont été testés pour mesurer les pools isotopiquement échangeables : une approche « par agitation » (proche des techniques d'extraction de sol conventionnelles) et une approche par percolation d'une colonne de sol. L'objectif était d'observer d'éventuelles différences entre les approches et discuter/déterminer l'approche la plus adéquate pour quantifier les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K et tracer les phases du sol contribuant à ces pools isotopiquement échangeables.

Les différences étaient marquées entre les deux approches pour le Ca et K, où les pools E_{Ca} et E_K mesurés en agitation étaient quasi systématiquement supérieurs à ceux mesurés par percolation (**Fig VI-1**). Comparativement, le Mg affichait un comportement particulier où les différences entre les méthodes étaient faibles et distribuées autour de 0 pour les faibles valeurs E_{Mg} ($< 25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Pour expliquer les différences entre les deux approches expérimentales, plusieurs hypothèses ont été envisagées.

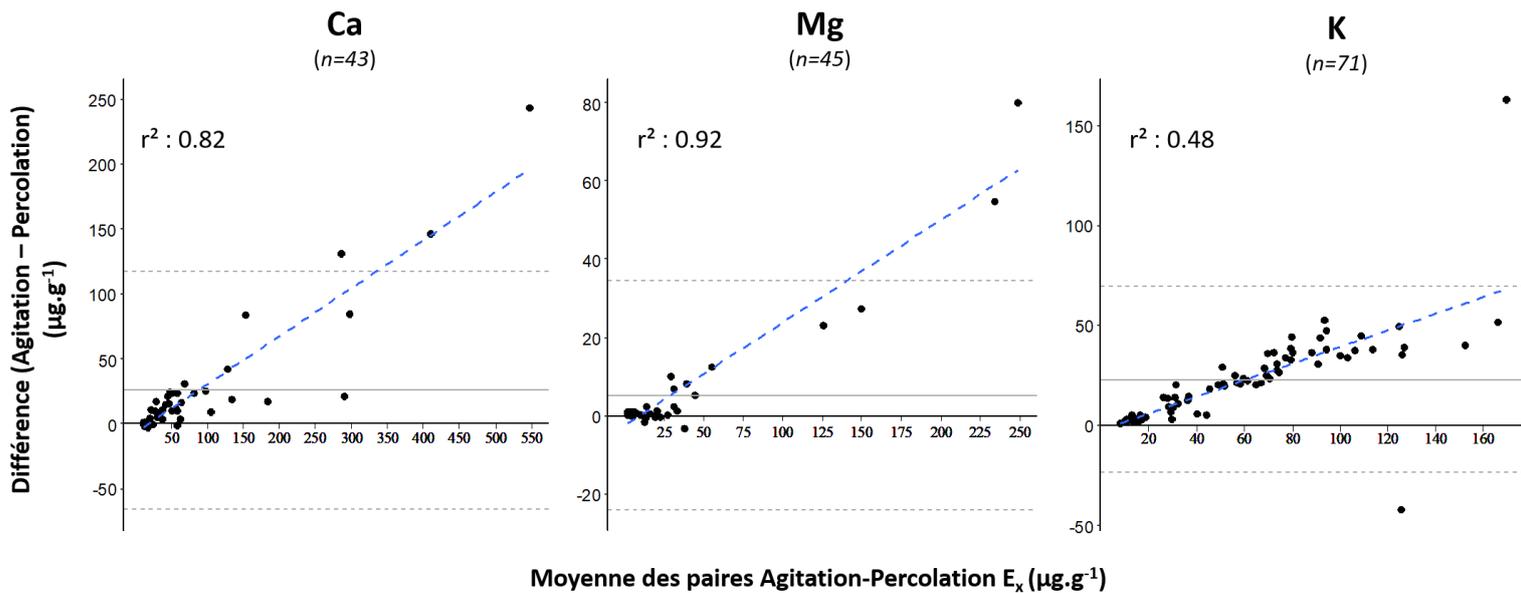


Figure VI-1. Représentation de Bland-Altman des différences des paires ($E_{x_agitation} - E_{x_percolation}$) exprimés en $\mu\text{g.g}^{-1}$ en fonction des moyennes des paires exprimés en $\mu\text{g.g}^{-1}$. Les régressions linéaires sont représentées par les droites bleues. Les droites horizontales pleine et en pointillés représentent respectivement les moyennes des différences et les intervalles (± 1.96 écart-type).

1.1. Différences de cinétiques élémentaire et isotopique

Pour obtenir une mesure répétable du pool isotopiquement échangeable, il est nécessaire que le temps d'équilibre élémentaire et isotopique de l'approche expérimentale utilisée soit suffisamment long pour que l'équilibre soit atteint et de manière homogène pour l'ensemble de l'échantillon de sol présent dans le réacteur. Dans le système en percolation pour lequel le renouvellement de la solution à l'interface solide/liquide est plus lent, il est possible que, malgré des temps expérimentaux plus longs, que l'équilibre géochimique et isotopique n'ait pas été atteint. Ceci expliquerait les plus faibles pools isotopiquement échangeables mesurés par cette approche.

Les résultats expérimentaux montrent que l'équilibre isotopique a été atteint pour les deux approches expérimentales (**Fig VI-2**). Toutefois, si l'équilibre élémentaire a été atteint pour l'approche par agitation, cela ne semble pas avoir été le cas pour l'approche par percolation (**Fig VI-3**). Une diminution significative et simultanée des concentrations en solution de Ca,

Mg et K entre 24h et 168h a été observée pour de nombreux échantillons. Cette évolution des concentrations ne semble pas avoir affecté la mesure des pools isotopiquement échangeables. Ce résultat est vraisemblablement expliqué par un flux net d'adsorption des cations sur la phase solide, probablement sur le complexe d'échange cationique du sol plutôt que par un processus de précipitation. En effet, les quantités de Ca, Mg et K extraites du pool échangeable (extraction $\text{NH}_4\#1 + \text{NH}_4\#2$) des échantillons de sol du système en percolation étaient significativement supérieures comparées à celles du système en agitation mais la somme des quantités de Ca, Mg et K retrouvées dans la solution du sol et les deux extractions NH_4^+ était très similaire entre les deux approches.

Ce flux net d'échange de Mg, Ca et K s'explique vraisemblablement par une évolution de l'acidité dans le système expérimental entre les deux derniers pas de temps. En effet, bien que les quantités d'aluminium en solution aient également significativement diminué entre l'avant-dernier et le dernier pas de temps dans le système en percolation, aucune différence d'Al extraits du pool échangeable n'a été observée entre les deux approches. Ces résultats suggèrent qu'une partie de l'aluminium a précipité, ce qui serait en accord avec une augmentation du pH de la solution. Une augmentation du pH de la solution favoriserait en effet la resaturation du complexe d'échange avec des cations tels que le Ca, Mg et K.

1.2. Processus d'altération minérale

Des flux d'entrées de Ca, Mg ou K par des processus d'altération et/ou de minéralisation sont susceptibles d'induire une dilution supplémentaire des traceurs isotopiques résultants dans une surestimation du pool source/puits. Dans un précédent essai de dilution isotopique dans un système en agitation sur une durée de 7 jours (van der Heijden et al. 2018), après qu'un équilibre isotopique semblait s'être instauré, une très nette augmentation des pools E_{Ca} et E_{Mg} a été observée entre 48h et 7 jours d'agitation. Cette augmentation simultanée à une augmentation des concentrations en Ca, Mg, Al, Si a probablement été causée par un flux d'altération minérale dans ce système expérimental. Dans le cadre de notre étude, l'équilibre élémentaire et isotopique a été atteint entre l'avant-dernier et dernier pas de temps dans le système en agitation. Pour le système en percolation, malgré l'évolution des concentrations élémentaires, l'équilibre isotopique était atteint entre l'avant-dernier et le dernier pas de temps. Ceci suggère que la différence de pools isotopiquement échangeable entre les deux approches n'est pas causée par un flux d'entrée de Ca, Mg ou K par altération minérale.

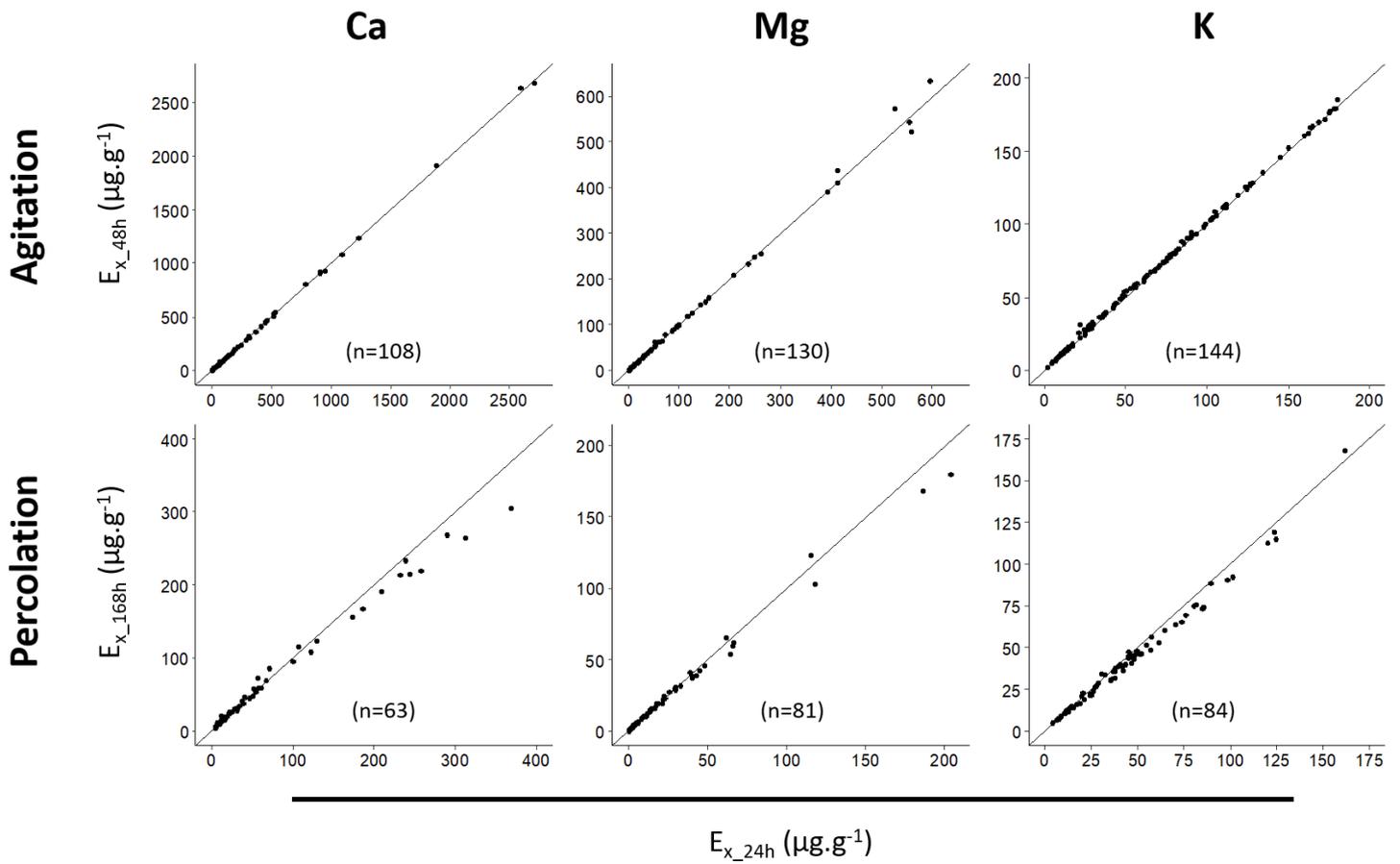


Figure VI-2. Evolution des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K entre l'avant-dernier (i.e. 24h) et les derniers pas de temps (i.e. 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation) pour les deux dispositifs expérimentaux. Les droites pleines représentent $y:x = 1$. Le nombre d'échantillons validés (n) pour chaque dispositif et chaque élément est indiqué entre parenthèses.

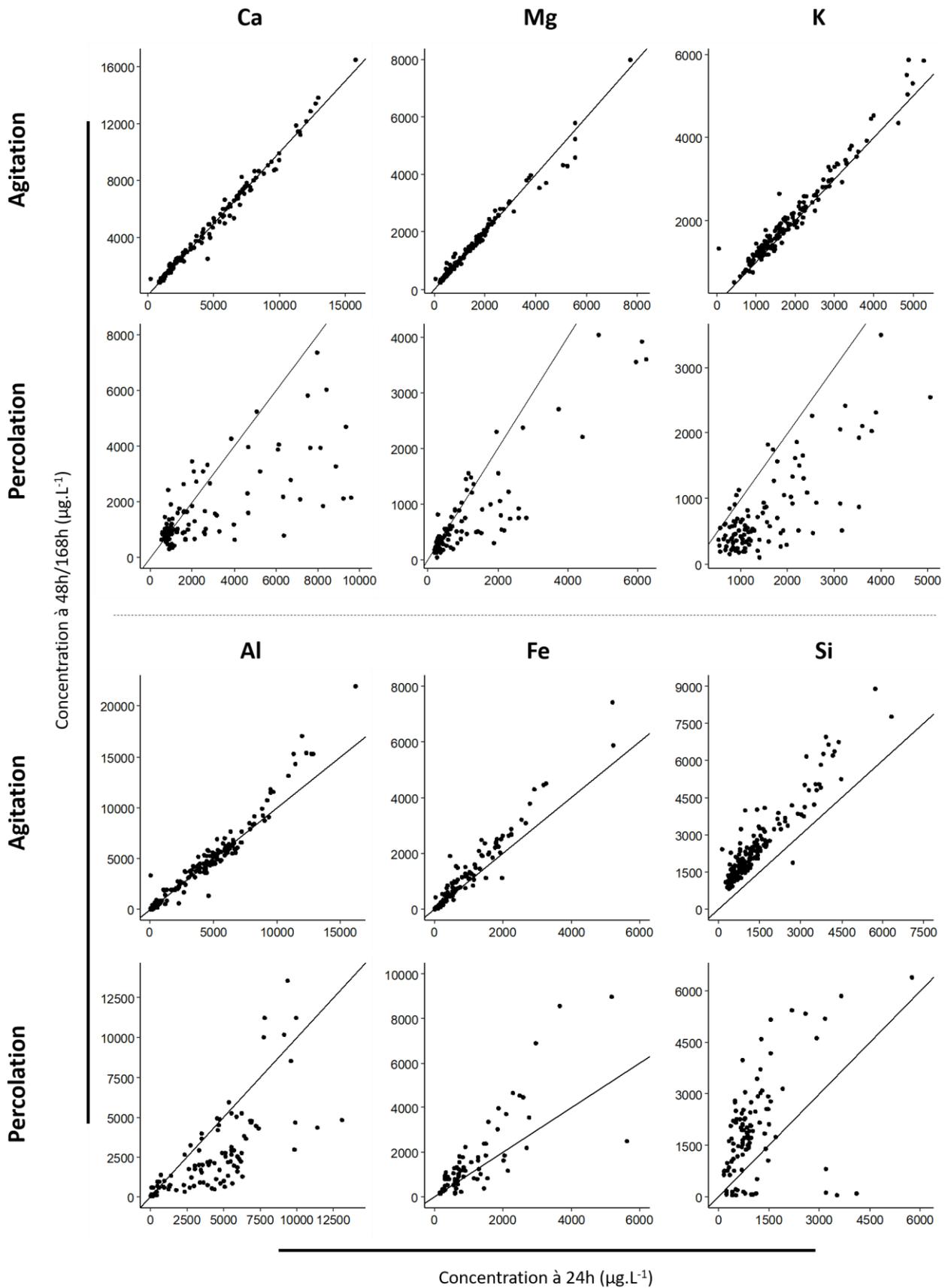


Figure VI-3. Evolution des concentrations élémentaires de Ca, Mg, K, Al, Fe et Si en solution entre l'avant-dernier (*i.e.* 24h) et les derniers pas de temps (*i.e.* 48h pour l'agitation et 168h pour la percolation) de la cinétique pour les deux dispositifs expérimentaux. Les droites pleines représentent $y:x = 1$.

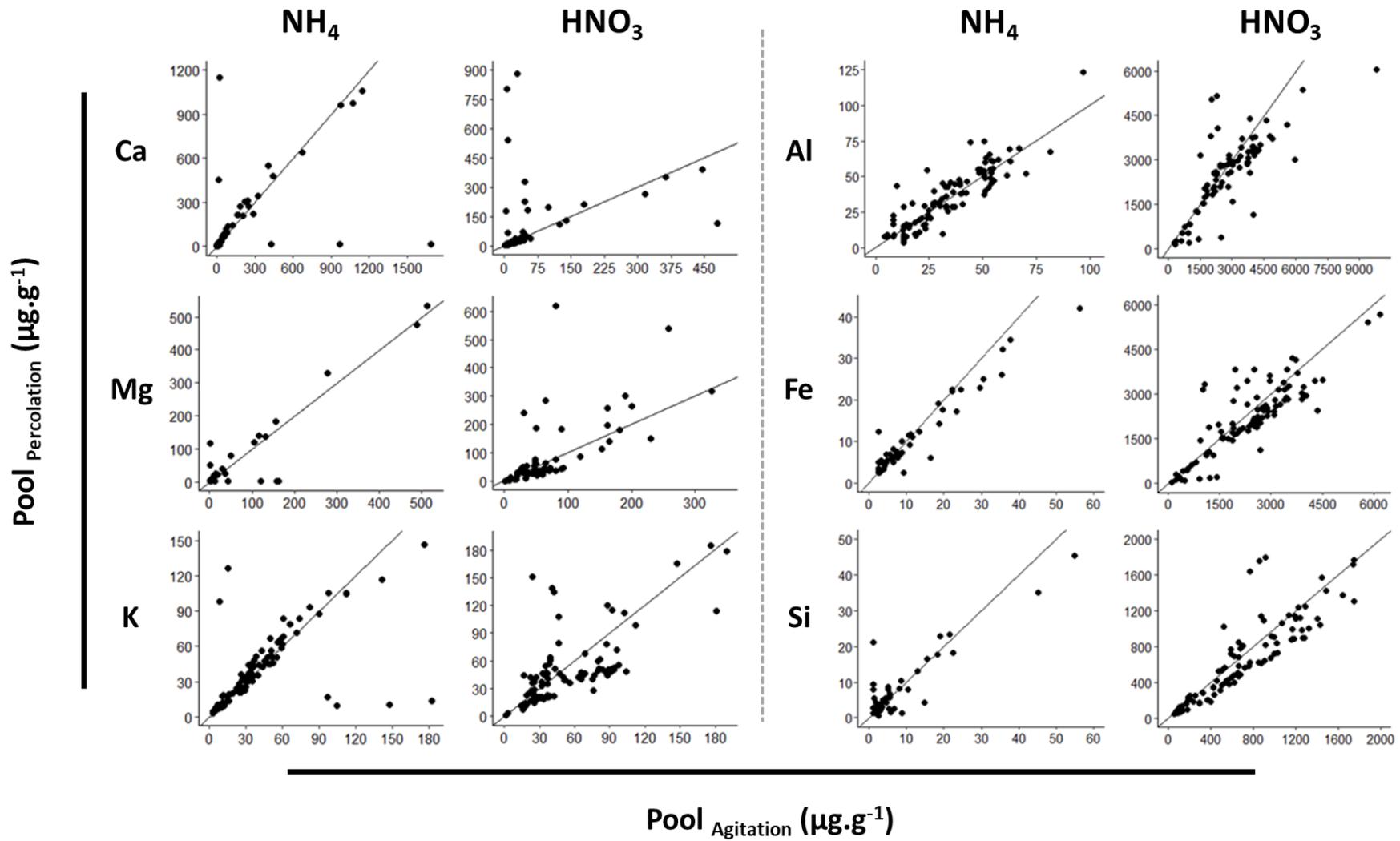


Figure VI-4. Comparaison des quantités extraites de Ca, Mg, K, Al, Fe et Si dans les extractions acétates (NH_4) et dans l'extraction HNO_3 . Les droites pleines représentent $y:x = 1$.

1.3. Différences d'accessibilité de certains sites d'échange/adsorption

La dernière hypothèse qui peut être avancée pour expliquer les différences de résultats entre les deux approches est que certains sites sources/puits contribuant au pool isotopiquement échangeable mesuré par le dispositif en agitation n'ont pas contribué au pool isotopiquement échangeable mesuré par le dispositif en percolation. Plusieurs raisons expliquant de telles différences peuvent être avancées. Même si les échantillons de sol ont été préalablement tamisés (2mm), des micro-agrégats de sol peuvent subsister dans les échantillons archivés. Ces agrégats se dispersent sous l'action mécanique de l'agitation ce qui pourrait rendre plus accessible les sites isotopiquement échangeables contenus à l'intérieur des agrégats. A l'inverse, dans le dispositif de percolation de colonne de sol, ces petits agrégats subsistent. Il est possible que les phases porteuses du pool isotopiquement échangeable se situant dans le cœur des agrégats soient moins bien prises en compte. En effet, dans le cœur d'un agrégat, le renouvellement de la solution à l'interface solide/liquide serait limité par les processus de diffusion. Enfin, il est aussi possible que le renouvellement de la solution de traçage à l'interface solide/liquide ait été limité par de potentiels chemins d'écoulement préférentiels dans le dispositif en percolation qui auraient pu se mettre en place en cours de l'expérience.

Si les différences entre les deux dispositifs expérimentaux s'expliquent par une différence de surface de contact entre la solution et le sol, plus de sites d'échange cationiques (extractibles à l'acétate d'ammonium) devraient contribuer à l'équilibre élémentaire et isotopique. Une quantité supérieure de traceur du Ca, Mg et K dans les pools extraits à NH_4 seraient donc attendu dans le système en agitation. Il n'est cependant pas possible de conclure puisque le flux net d'adsorption de Ca, Mg et K dissous dans la solution durant la phase d'équilibre dans l'approche en percolation rend difficile la comparaison des bilans de traceurs dans les pools du sol entre les deux approches.

Il est également possible que la différence entre les deux approches soit liée à des différences d'accessibilité des phases porteuses du pool isotopiquement échangeable et non-extractibles à l'acétate d'ammonium (phases minérales secondaires amorphes et/ou mal cristallisées). En effet, Les phases minérales secondaires ont pu être déstabilisées au cours de la phase d'équilibre isotopique dans le système en agitation créant ainsi des sites d'échange isotopique ou rendant accessible des sites existant mais occlus dans les phases amorphes. Les pools d'Al, Fe et Si

extraits à l'acide nitrique étaient significativement supérieurs dans le dispositif en agitation comparé au dispositif en percolation alors que les pools de ces éléments extraits avec l'acétate d'ammonium étaient similaires pour les deux approches expérimentales. De plus, le suivi des concentrations de Fe et Si en solution montrait une constante augmentation au cours du temps pour lesquels l'équilibre élémentaire n'est pas atteint et ce, pour les deux approches. Ces résultats suggèrent que des phases minérales secondaires non-cristallines contenant ces éléments ont été altérées/déstabilisées au cours de la phase d'équilibre dans le système en agitation. Leur déstabilisation/altération aurait pu rendre ces phases plus labiles à une extraction avec un acide fort et aurait pu rendre accessible des sites additionnels à l'échange isotopique.

1.4. Recommandation expérimentale

D'un point de vue expérimental

L'approche par percolation d'une colonne de sol avec la solution de traçage se rapprocherait le plus des conditions *in situ* d'équilibre chimique entre la phase solide et liquide comparativement à l'approche par agitation. Cette dernière respectant un ratio (volume de solution):(masse de sol) proche de la capacité au champ des échantillons de sol, comparée à l'approche par agitation pour laquelle le sol est noyé dans un grand volume d'eau. Cependant, pour un nombre significatif d'échantillons dans le système en percolation, les résultats montrent qu'un flux d'adsorption de cations s'est produit en cours d'expérimentation vraisemblablement à cause d'une modification forte des conditions physico-chimiques dans la colonne de sol (pH et/ou modification de la capacité d'échange cationique). Bien que ce flux d'adsorption ne semble pas avoir eu d'effet sur les équilibres isotopiques et la mesure des pools isotopiquement échangeables, ce processus a très probablement eu un effet sur la quantité de traceur retrouvé dans les compartiments du sol et donc sur l'estimation de la contribution relative de ces compartiments au pool isotopiquement échangeable du sol. Comparativement, l'équilibre élémentaire était en général plus stable pour l'approche en agitation. Cependant, il est possible que des minéraux secondaires amorphes et non cristallins aient été déstabilisés durant l'équilibre géochimique sans toutefois provoquer un flux d'altération minérale libérant du Ca, Mg ou K. Il n'est pas encore tout à fait clair si cette déstabilisation reflète un artefact expérimental ou des processus naturels (les phases secondaires amorphes pouvant être très dynamiques dans les sols).

D'un point de vue technique

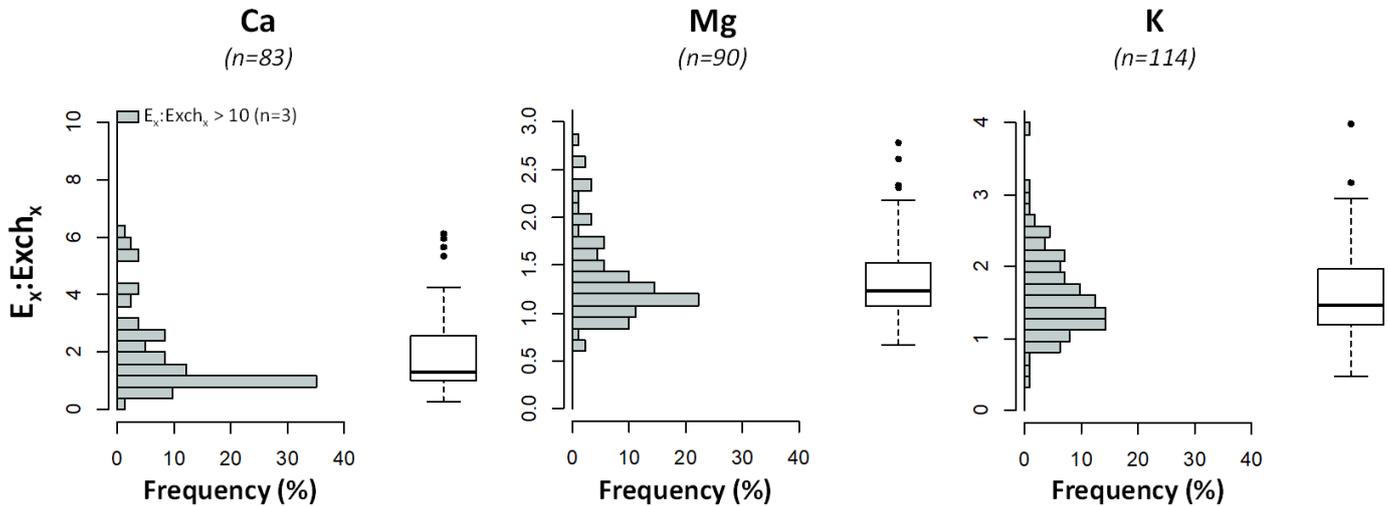
La mise en place et le suivi de la dilution isotopique dans le dispositif en percolation est plus complexe comparé au système en agitation (problèmes de percolation, flux préférentiels, transfert de l'échantillon de sol pour réaliser les extractions, etc.). De plus, un plus grand nombre de contaminations pour le système en percolation a été constaté menant à l'invalidation de l'échantillon pour l'interprétation du jeu de données : 51%, 46% et 38% de perte respectivement pour le Ca, Mg et K comparativement à l'approche en agitation (39%, 41% et 27% de perte respectivement pour le Ca, Mg et K). L'ensemble de ces éléments montre que l'approche par percolation est moins répétable que l'approche par agitation.

L'approche par agitation semble donc être l'approche la plus adéquate pour la mesure des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. En plus de sa plus grande facilité de mise en œuvre (temps d'équilibre plus court), son moindre risque de contamination et sa capacité de réaliser simultanément un nombre d'échantillons de sol supérieur, les résultats de cette approche semblent plus répétables (homogénéité des conditions expérimentales) tant que les temps d'équilibre isotopique sont maintenus en dessous de 48h.

2. Quantification des pools de Ca, Mg et K isotopiquement échangeable et comparaison aux pools échangeable conventionnels

La comparaison de la mesure des pools source/puits entre l'approche conventionnelle (pools échangeables conventionnels $Exch_Conv_x$) et l'approche isotopique (pools isotopiquement échangeables E_x) a été réalisée sur le jeu de donnée du dispositif en agitation. Ce choix est basé sur les recommandations exposées dans le chapitre 3 et discutées précédemment : moindre risque de pollution, facilité de mise en œuvre et capacité de réaliser simultanément un grand nombre d'échantillons de sol. Pour cette étude, les échantillons de sol de la deuxième campagne du réseau Renecofor (ré-échantillonnage temporel) n'ont pas été inclus dans le jeu de données. Après l'étape de validation, le jeu de données exploité dans cette étude comprenait deux sous-ensembles :

- Un jeu de données isotopiques (comprenant les pools E_{Ca} , E_{Mg} et E_K) composé de 83 échantillons pour le Ca (22 sites), de 90 échantillons pour le Mg (24 sites) et de 114 échantillons pour le K (24 sites) sur un nombre total de 143 échantillons de sol.
- Un jeu de données d'extraction de sol (comprenant la distribution des traceurs dans les phases du sol) qui était composé de 119 échantillons pour le Ca (26 sites), de 93 échantillons



pour le Mg (23 sites) et de 122 échantillons pour le K (25 sites).

Figure VI-5. Histogramme et boxplot des distributions des ratios $E_x:Exch_{Conv_x}$ pour le Ca, Mg et K. E_x représente les pools isotopiquement échangeables mesurés et $Exch_{Conv_x}$ les pools échangeables conventionnels. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses.

Pour la grande majorité des sols investigués (81%, 87% et 90% respectivement pour le Ca, Mg et K), les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K étaient supérieurs aux pools échangeables conventionnels (**Fig VI-5**). Les ratios $E_x:Exch_{Conv_x}$ variaient de 0.28 – 31.76 (médiane : 1.30) pour le Ca, de 0.67 – 2.79 (médiane : 1.23) pour le Mg et de 0.47 – 3.99 (médiane : 1.47) pour le K. Cette tendance a été confirmée par un test de comparaison de Wilcoxon-Mann-Whitney pour laquelle les différences étaient statistiquement significatives (bien que l'homoscédasticité n'ait pas été validée pour le Mg). De plus, même en tenant compte de l'incertitude analytique des pools E_x , estimée à partir d'échantillons répliqués (16% pour le Ca, 14% pour le Mg et 8% pour le K), les pools E_x étaient significativement supérieurs aux pools $Exch_{Conv_x}$ pour 58%, 62% et 88% des échantillons respectivement pour le Ca, Mg et K. Ces résultats montrent que cette tendance n'est pas liée à la simple variabilité et/ou aux

incertitudes analytiques. Ces pools additionnels, non pris en compte par les approches conventionnelles, pouvaient représenter des quantités substantielles correspondant à au moins 50% du pool Exch_Conv_x pour 43%, 24% et 47% des échantillons pour Ca, Mg et K, respectivement.

La distribution des traceurs de Ca, Mg et K dans les différents compartiments extraits du sol (**Fig VI-6**) a mis en évidence que des quantités analytiquement significatives de traceur ont été retrouvées dans des phases extractibles à l'acide nitrique (HNO_3) et ce, après deux extractions successives à l'acétate d'ammonium ($\text{NH}_4\#1$ et $\text{NH}_4\#2$). Bien que les pools E_{Ca} , E_{Mg} et E_{K} soient principalement constitués par les pools échangeables à l'acétate d'ammonium et leurs variabilités expliquées par la variabilité des pools $\text{Exch_Conv}_{\text{Ca}}$, $\text{Exch_Conv}_{\text{Mg}}$ et $\text{Exch_Conv}_{\text{K}}$, ces résultats mettent en lumière la contribution de phases du sol, non-extractible par un sel concentré, aux équilibres géochimiques avec la solution du sol. Ces pools- HNO_3 de Ca, Mg et K réactifs et non pris en compte par les analyses de sol conventionnelles sont susceptibles de jouer un rôle important dans le fonctionnement biogéochimique des écosystèmes forestiers, plus particulièrement dans les sols où les pools échangeables conventionnels sont faibles.

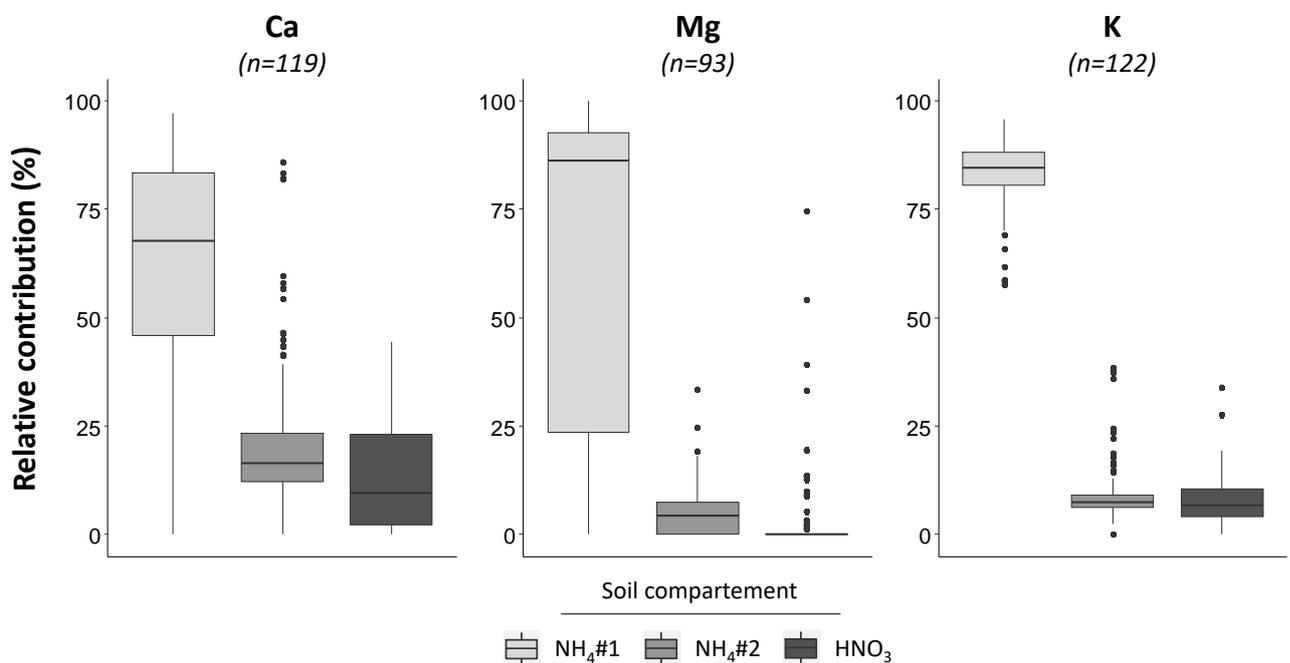


Figure VI-6. Contribution relative (%) de chaque extraction de sol au pool isotopiquement échangeable (E_x) de Ca, Mg et K. Le nombre d'échantillons validés (n) est indiqué entre parenthèses.

La distribution des ratios $E_x:Exch_Conv_x$ en fonction des types de sol ou de la profondeur (**Fig VI-9**) montre que les méthodes conventionnelles de mesure des cations échangeables sous-estiment le pool source/puits de Ca, Mg et K quel que soit le type de sol et la profondeur investiguée. La variabilité des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K et la variabilité de leur différence avec les pools échangeables conventionnels ne s'explique pas par les différents types de sol. Cependant, les ratios $E_{Ca}:Exch_Conv_{Ca}$ étaient plus importants en moyenne et en générale pour les podzols et cambisols tandis que les ratios $E_{Mg}:Exch_Conv_{Mg}$ et $E_K:Exch_Conv_K$ étaient plus importants pour les podzols et les andosols (bien que la représentativité des andosols soient faibles, compte tenu du faible nombre d'échantillons pour ce type de sol).

De manière plus surprenante, pour une proportion plus restreinte du jeu de données, les pools E_x étaient inférieurs aux pools $Exch_Conv_x$ (pour 19%, 13% et 10% du jeu de données respectivement pour le Ca, Mg et K). Ce résultat était inattendu puisque les pools $Exch_Conv_x$ sont par définition mobilisables par échange cationique. Il est communément admis que ces pools sont en équilibre rapide avec la solution du sol. Il était donc attendu que les pools E_x comprennent le pool $Exch_Conv_x$ et donc soient au moins équivalent en taille au pool $Exch_Conv_x$. En comparant les échantillons de sol concernés avec le reste du jeu de données, il n'a pas été possible d'identifier des propriétés physico-chimiques particulières à ces échantillons de sol pour lesquels $E_x:Exch_Conv_x < 1$. Ces résultats suggèrent que seule une fraction des pools de cations échangeables (selon les mesures conventionnelles) participe à l'équilibre géochimique entre la solution et le sol. En effet, il a été observé que pour ces échantillons, les pools extractibles à l'acétate d'ammonium n'étaient pas entièrement géochimiquement réactifs : les fractions isotopiquement échangeables médianes des pools $NH_4\#1$ et $NH_4\#2$ étaient respectivement de 66% et 47% pour le Ca, de 82% et 29% pour le Mg et de 93% et 75% pour le K.

Cette observation ne concernait pas uniquement les échantillons dont les ratios $E_x:Exch_Conv_x < 1$, mais s'étendait sur une large proportion du jeu de données et pour les trois systèmes isotopiques, où les pools extractibles à l'acétate d'ammonium n'étaient que très rarement 100% isotopiquement échangeable (**Fig VI-7**) : les fractions isotopiquement échangeables sur l'ensemble du jeu de données variaient de 68% à 54% pour le Ca, de 81% à 24% pour le Mg

et de 88% à 53% pour le K. Le fait que moins de 100% des pools échangeables ait atteint l'équilibre isotopique avec la solution de traçage est probablement expliqué par le fait que certains sites, extractibles avec une solution saline concentrée, peuvent ne pas être réactifs avec une solution diluée. Les relations positives et non-linéaires qui ont été trouvées entre les fractions isotopiquement échangeables des pools NH₄#1 et NH₄#2 extraits de Ca, Mg et K avec leurs pools échangeables conventionnels respectifs pourraient appuyer cette hypothèse (**Fig VI-8**). En effet, ce résultat est en accord avec les mécanismes d'échange ionique pour lesquels la probabilité d'échange entre un cation donné présent dans la solution et le même cation du complexe d'échange est proportionnelle à l'abondance du cation adsorbé sur le complexe d'échange.

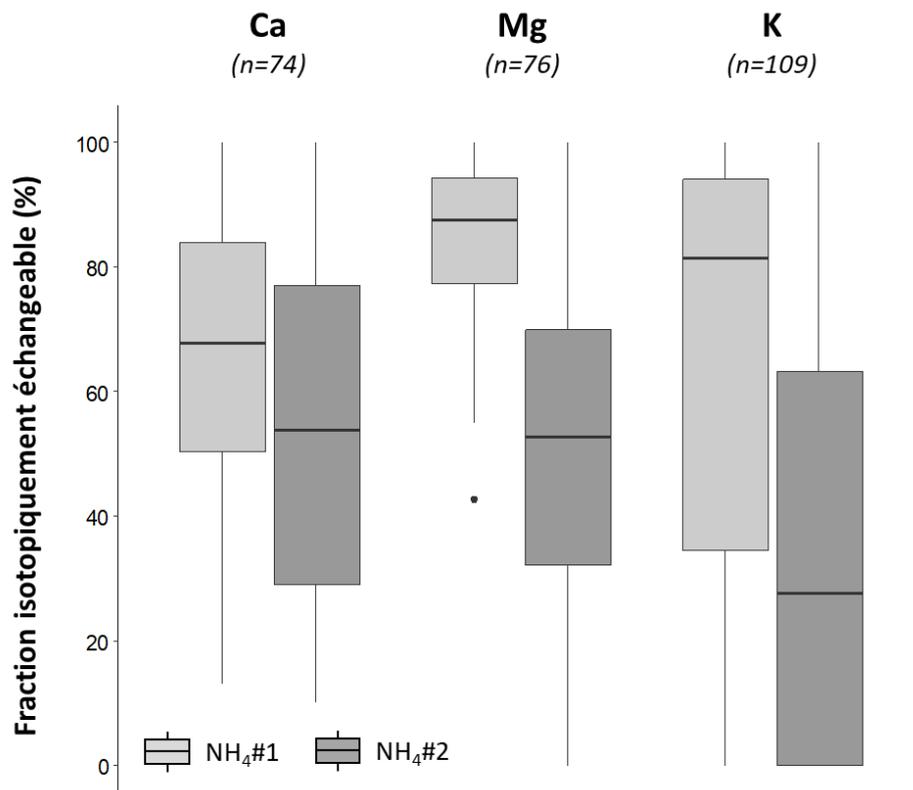


Figure VI-7. Boxplots des fractions isotopiquement échangeables des pools NH₄#1 et NH₄#2 extraits de Ca, Mg et K. Le nombre d'échantillon (n) est indiqué entre parenthèses.

Néanmoins, pour les échantillons de sol dont le ratio $E_x:Exch_Conv_x$ était inférieur à 1, des quantités analytiquement significatives ont tout de même été retrouvées dans les phases HNO_3 . Cela qui suggère que pour ces échantillons aussi, d'autres phases du sol non-extractibles par les méthodes conventionnelles d'extraction des cations échangeables, contribuent directement à l'équilibre entre la solution et le sol.

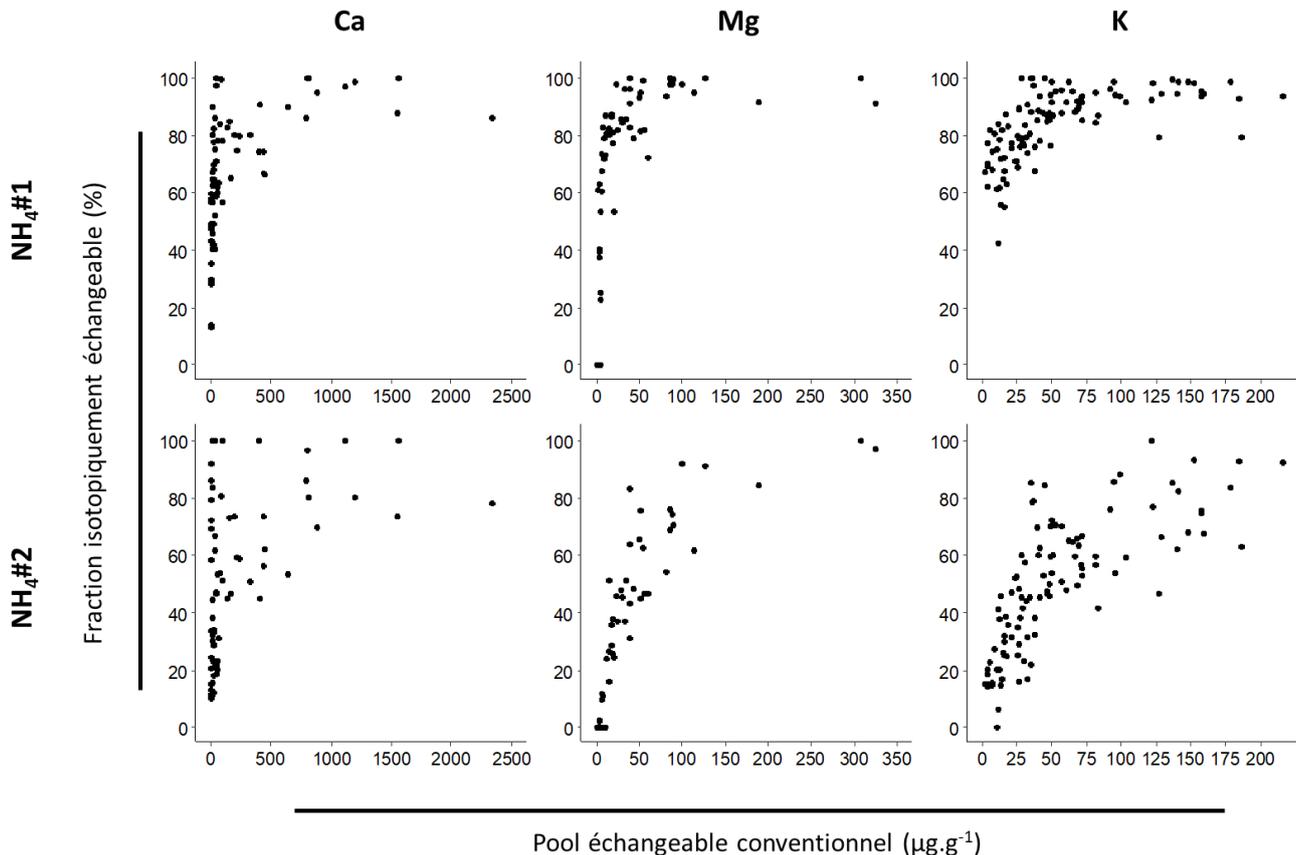


Figure VI-8. Relations entre les fractions isotopiquement échangeables des pools $NH_4\#1$ et $NH_4\#2$ extraits de Ca, Mg et K et les pools échangeables conventionnels respectifs.

Implication à l'échelle du profil de sol

A l'échelle du profil de sol (pour les sites dont au moins 3 horizons étaient exploitables), les stocks de Ca, Mg et K géochimiquement réactifs pouvaient, pour certains sites, être grandement sous-estimés par l'approche conventionnelle tandis que pour d'autres sites des valeurs similaires de stocks ont été retrouvées pour les deux approches isotopique et conventionnelle. En effet, la quasi-totalité des profils de sol avait des stocks E_x supérieurs aux stocks $Exch_Conv_x$ (respectivement 82%, 94% et 95% des échantillons pour le Ca, Mg et K). Les

différences de stocks entre E_x et $Exch_Conv_x$ représentaient en médiane $+73 \text{ kg.ha}^{-1}$ (gamme de variation de -37 à $+960 \text{ kg.ha}^{-1}$) pour le Ca, $+12 \text{ kg.ha}^{-1}$ (gamme de variation de -9 à $+927 \text{ kg.ha}^{-1}$) pour le Mg et $+121 \text{ kg.ha}^{-1}$ (gamme de variation -3 à $+441 \text{ kg.ha}^{-1}$) pour le K.

Sur la placette de hêtre du site expérimental de Breuil-Chenue, un appauvrissement des pools échangeables de Ca ($3.1 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$) et de Mg ($0.8 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$) a été prédit par les bilans entrée-sortie (van der Heijden et al. 2013). Si, pour le Mg, une approche isotopique *in situ* a montré des résultats en accord avec l'appauvrissement prédit par les bilans de masse, pour le Ca, les résultats obtenus par l'approche isotopique ont montré que les stocks de calcium dans le sol sont restés constants (van der Heijden et al. 2014). Les travaux de la présente thèse ont permis de montrer que le pool isotopiquement échangeable de Ca de cette même placette (profil entier 0-70cm), étaient plus grands ($138 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$) que les pools échangeables conventionnels ($73 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$) tandis que les pools isotopiquement échangeables et échangeables conventionnels de Mg étaient très similaires (35 et $33 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{an}^{-1}$). L'existence d'un pool réactif de Ca dans le sol en plus du pool échangeable mesuré conventionnellement explique probablement la discordance entre les bilans de fertilité « entrées-sorties » et l'évolution des pools échangeables de Ca du sol.

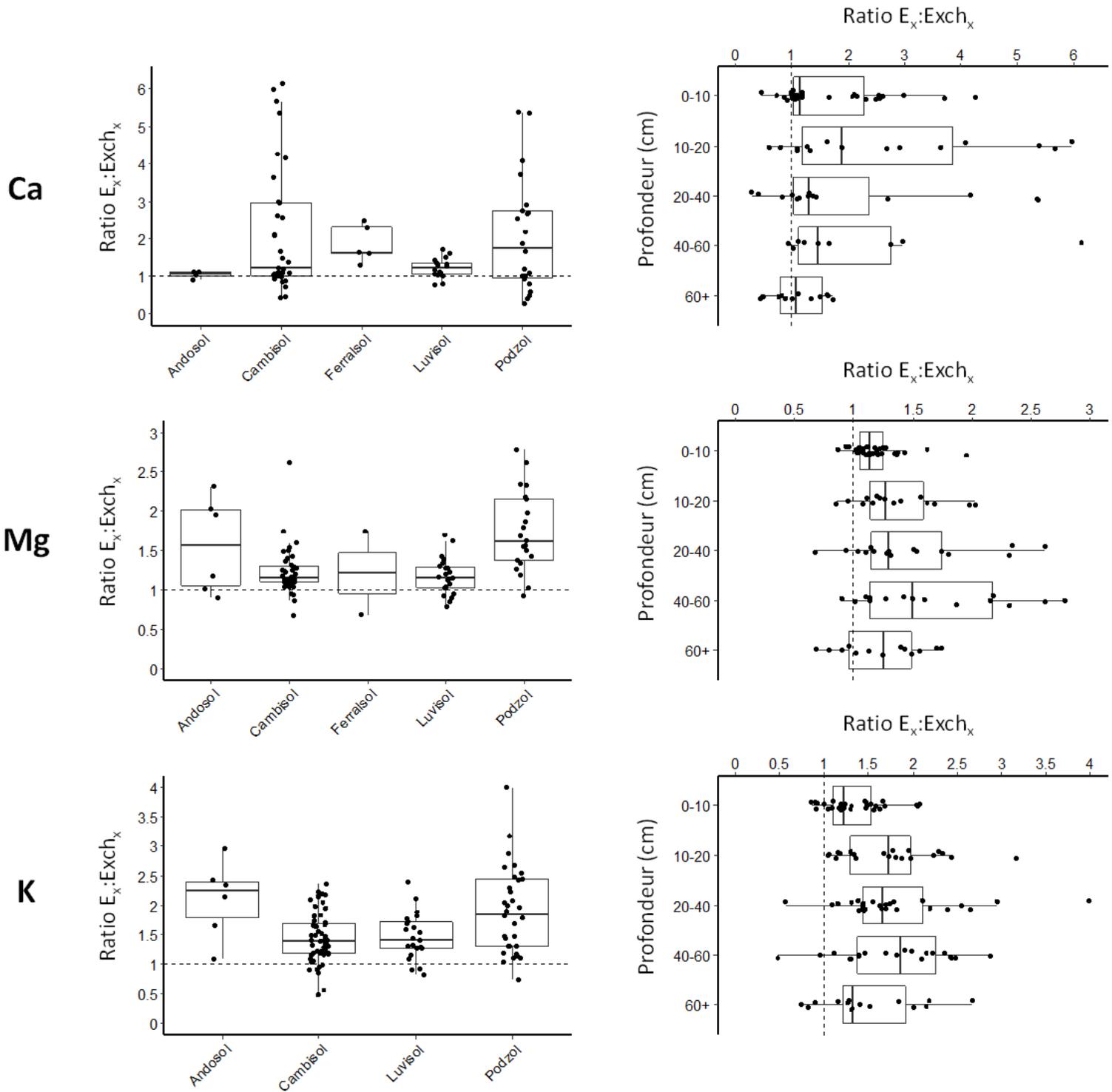


Figure VI-9. Boxplots des distributions des ratios $E_x:Exch_{Conv_x}$ de Ca, Mg et K en fonction du type de sol et des classes de profondeurs. Pour le Ca, l'abscisse a été tronqué pour faciliter la lecture (3 échantillons, dont les ratios étaient >10 n'apparaissent pas).

3. Identification des pools source/puits de Ca, Mg et K dans les sols

Comme détaillé précédemment, l'approche par dilution isotopique a permis de mettre en évidence que les pools source/puits de Mg, Ca et K du sol ne sont pas composés uniquement des pools échangeables extraits par les méthodes conventionnelles d'analyse de sol. Bien que ces derniers constituent la plus grande proportion de ces pools source/puits d'autres pools de Mg, Ca et K contribuent directement et significativement à l'équilibre géochimique entre la solution et le sol. L'extraction HNO_3 (1 mol.L^{-1}) est un réactif fort et non-sélectif capable de dissoudre de nombreuses phases minérales secondaires tel que les allophanes, les (hydr)oxydes de Fe et Al peu ou mal cristallisés, des phyllosilicates ainsi que des minéraux primaires facilement altérables. Cette extraction est aussi capable de dissocier les complexes organométalliques (e.g. Fe et Al) et d'extraire des cations dits échangeables. Cela dit, le protocole mis en place pour cette étude permet d'assurer que la quasi-totalité des cations échangeables ont été extraits par les étapes préalables à l'extraction HNO_3 . L'étude de la variabilité de l'importance de ces phases extraites par l'acide nitrique au sein du jeu de donnée en fonction des autres paramètres physico-chimique du sol a permis d'émettre différentes hypothèses sur la nature des phases non-extractibles avec un sel concentré et qui peuvent contribuer aux réactions d'équilibre avec la solution du sol.

3.1. Calcium

Des relations marquées et significatives ont été trouvées entre les quantités de traceurs de Ca retrouvées dans l'extraction HNO_3 et la teneur en carbone total des sols (**Fig VI-10**). Ce résultat, en accord avec la littérature, montre tout d'abord que le carbone et plus spécifiquement les composés organiques du sol jouent un rôle important dans le stockage de Ca dans les sols et un rôle plus important dans le stockage du Ca comparé aux autres cations nutritifs Mg et K. En effet, les composés organiques à travers leur grande diversité de structures et de groupements fonctionnels peuvent développer une capacité d'échange cationique (Thompson et al. 1989; Turpault et al. 1996) qui, dans certains sols, peut jouer un rôle plus important que la CEC d'origine minérale (Helling et al. 1964; Wright and Foss 1972; van der Heijden et al. 2014). Des études précédentes ont aussi montré que les sites d'échange cationique d'origine organique ont une grande affinité pour l'ion Ca (Ponette 1997; DeSutter et al. 2006) et que contrairement au Mg et au K, le Ca peut former des complexes avec différents groupements fonctionnels

organiques (Sentenac and Grignon 1981). Les résultats de cette étude permettent de confirmer et/ou montrer que :

- (i) les composés organiques du sol permettent de stocker un pool de Ca dans le sol ;
- (ii) le pool de Ca retenu dans les sols par les composés organiques est au moins en partie biodisponible ;
- (iii) les extractions conventionnelles des cations échangeables ne permettent pas d'extraire le pool de Ca retenu dans les sols par les composés organiques.

Une relation entre les quantités de traceurs de Ca retrouvées dans l'extraction HNO₃ et les quantités de Fe et d'Al extraits à l'acide nitrique a aussi été observée. Puisque la majorité des pools d'aluminium et le fer extraits à l'acide nitrique sont probablement issus de la dissolution des (hydr)oxides de Fe et Al (Nezat et al. 2007), il est probable que ces phases minérales secondaires jouent un rôle support au pool source/puits non-extractible à l'acétate d'ammonium. Bien que des études ont mis en évidence que le Ca pouvait s'adsorber directement sur ces phases minérales jusqu'à des valeurs de pH de 5 (Kinniburgh et al. 1976; Smeck et al. 1994) , ce type d'adsorption a surtout été observé dans des sols à pH neutre à basique (Kosmulski 2009). Cependant, comme suggéré par des études préliminaires à ces travaux de thèse (van der Heijden et al. 2017, 2018), il est probable que le Ca s'adsorbe indirectement sur les (hydr)oxides de Fe et Al par un pont anionique (*e.g.* sulfate, phosphate mais plus probablement d'acide organique comme discuté ci-dessus). De plus, vue la nature très dynamique des (hydr)oxides de Fe et Al peu ou mal cristallisés (dissolution/précipitation suite à des modifications physique et chimique de la solution du sol sous l'influence de l'activité microbienne ou de la plante), il est aussi possible que des pools de Ca se retrouvent temporairement occlus dans des agrégats supramoléculaires où des molécules organiques de taille variable maintenus par des forces de Van-der-Waals, des ponts hydrogènes et des pontages métalliques impliquant du Ca ou des (hydr)oxides de Fe et Al (Simpson et al. 2002; Collignon et al. 2012; Clarholm et al. 2015; Hall and Huang 2017; Sowers et al. 2018).

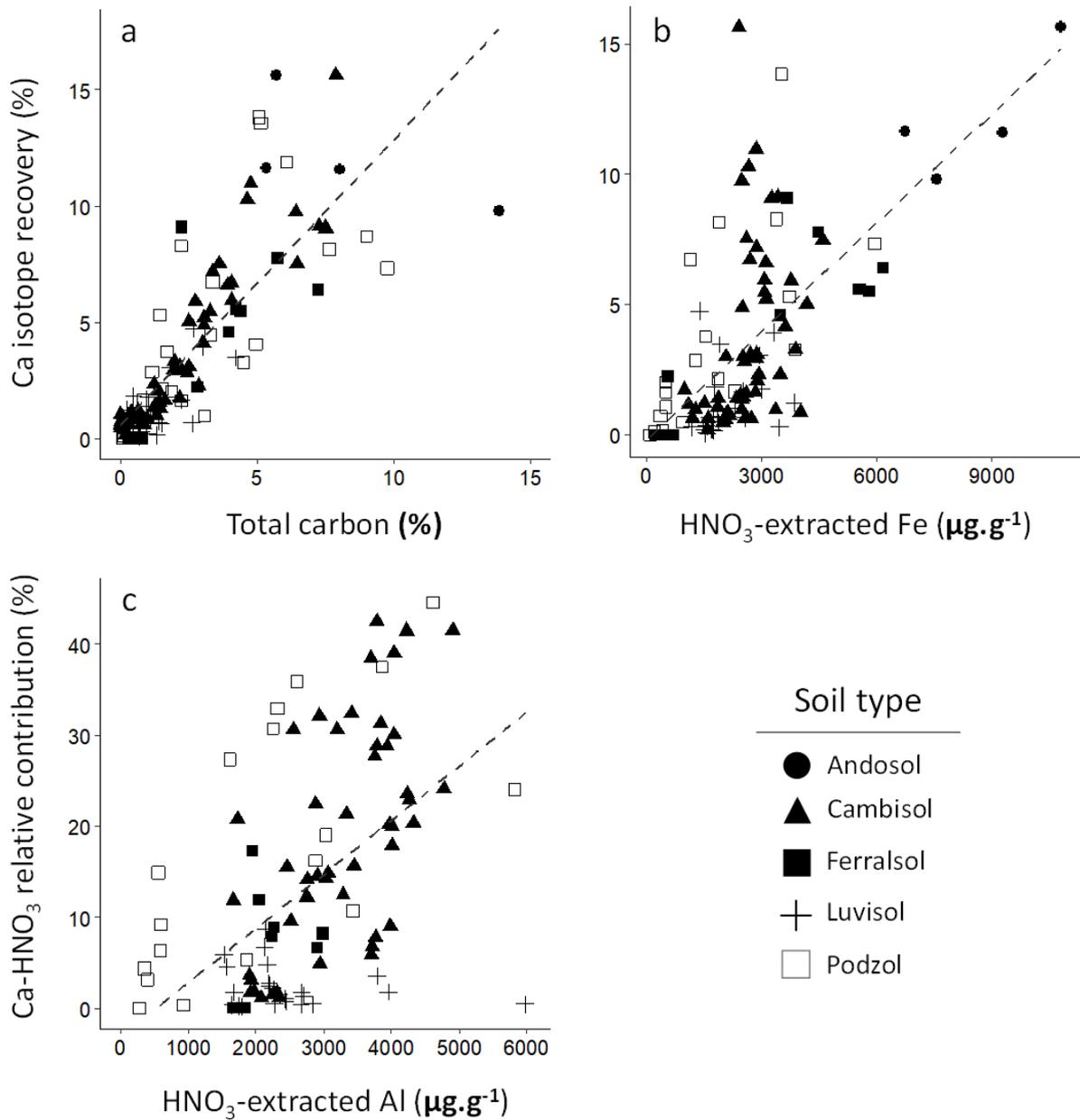


Figure VI-10. Relation entre la quantité de traceur isotopique de Ca mesuré dans le compartiment extrait HNO₃ et (a) la teneur en carbone, (b) le pool de Fe extrait dans l'extraction HNO₃ et (c) représente la relation entre la contribution relative du pool extrait HNO₃ de Ca au pool E_{Ca} et le pool d'Al extrait dans l'extraction HNO₃. Les régressions linéaires sont représentées par les droites en pointillé.

3.2. Potassium

De nombreuses études dans la littérature ont montré que des pools de potassium adsorbé sur des sites d'échanges spécifiques au potassium et non-extractibles avec un sel concentré (*e.g.* NH_4^+) pouvaient être biodisponibles (Kolodny and Robbins 1940; Sparks 1987; Steiner and Lana 2018). Ces pools correspondent au potassium « fixé » adsorbé sur les bords altérés d'argiles 2:1 (*i.e.* frayed edge sites) ou contenu dans l'espace interfoliaire de phyllosilicates (*i.e.* K interfoliaire). De nombreux processus biotiques (*e.g.* processus pilotés par la plante) et abiotiques (*e.g.* abondance et type d'argile, évolution des conditions chimiques de la solution du sol) concourent ensemble dans la dynamique de fixation/libération du potassium interfoliaire. Les résultats des travaux de cette thèse sont en accord avec cette hypothèse. En effet, une forte relation a été mise en évidence entre la teneur en argile des sols et la fraction isotopiquement échangeable du pool nitrique de K (**Fig VI-11**). Il est probable que des réactions d'échanges ioniques spécifiques au potassium, entre la solution de traçage et du K fixé ou du K-interfoliaire, ont eu lieu durant l'étape d'équilibre isotopique. L'extraction avec un acide fort ($\text{HNO}_3 - 1 \text{ mol.L}^{-1}$) a ensuite probablement permis une altération suffisante des phyllosilicates pour libérer, au moins pour partie, ces pools de potassium fixé et ou interfoliaire. Selon cette hypothèse, ce ne serait pas tant la teneur en argile (classe granulométrique) que l'abondance de certains type de phyllosilicates qui contrôlerait la taille du pool du K isotopiquement échangeable mais non-extractible à l'acétate d'ammonium. Les résultats obtenus pour les échantillons de sol du site de Breuil-Chenue où des données minéralogiques quantitatives étaient disponibles, sont en accord avec cette hypothèse. En effet, des corrélations positives ont été trouvées entre la teneur en vermiculite (phyllosilicate de type 2:1 donc comportant du K interfoliaire) et (i) la quantité de traceur isotopique de K dans l'extraction HNO_3 , (ii) la contribution relative du pool HNO_3 de K au pool E_K et (iii) le ratio $E_K:\text{Exch}_K$ (**Fig VI-12**). Pour ce même site, aucune relation similaire n'a été trouvée avec les teneurs en kaolinite (argile 1:1, pas de K interfoliaire). Aucune relation similaire n'a été trouvée avec les teneurs en illite alors que ce phyllosilicate (2:1) contient aussi un pool de K interfoliaire. Bien que ces résultats se limitent au site de Breuil-Chenue, ils illustrent bien l'importance de la minéralogie des phyllosilicates dans la compréhension des pools isotopiquement échangeables de potassium.

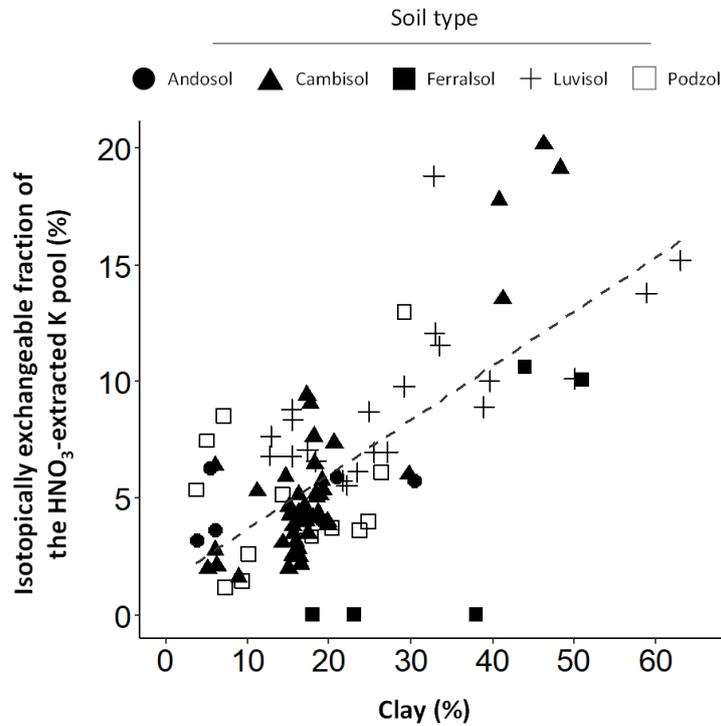


Figure VI-11. Relation entre le pourcentage d’argile (classe de texture < 2 μm) des échantillons de sol et la fraction isotopiquement échangeable du pool de K extrait à l’acide nitrique. La régression linéaire est représentée par la droite en pointillé.

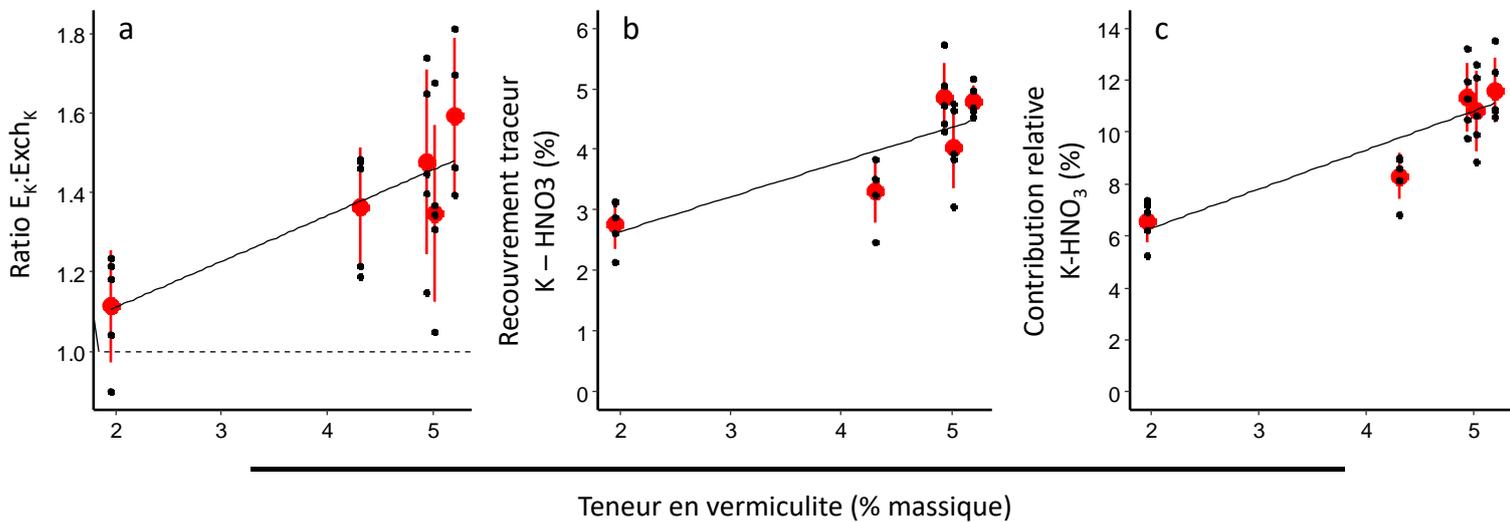


Figure VI-12. Relation entre la teneur en vermiculite des sols du site de Breuil-Chenué avec (a) le ratio $E_K:Exch_{Conv_K}$, (b) la quantité de traceur isotopique de K retrouvé dans l’extraction nitrique et (c) la contribution relative du pool nitrique extrait de K au pool E_K . Les points et droites verticales rouges représentent respectivement la moyenne et les écart-types pour chaque horizon des 5 placettes du site de Breuil-Chenué investiguée dans cette étude (hêtre, chêne, douglas, épicéa et taillis-sous-futaie).

En revanche, les plus fortes différences relatives (ratio $E_K:Exch_Conv_x$) entre les pools E_K et $Exch_Conv_K$ ont été observées pour les échantillons de sol de podzol et d'andosol (**Fig VI-9**) dont les teneurs en argile sont les plus faibles. Ces résultats suggèrent que des phases autres que les sites spécifiques du potassium dans les phyllosilicates contribuent également à porter les pools isotopiquement échangeables de K. Les relations mises en évidence dans notre jeu de données suggèrent que du potassium a pu également être adsorbé via des processus d'échange ionique à la surface de gels de silices ou d'aluminosilicates amorphes. Pour le site de Breuil-Chenu, une corrélation positive a été trouvée entre d'une part, le pool isotopiquement échangeable mais non-extractible à l'acétate d'ammonium (différence entre le pool E_K et le pool $Exch_K$) et d'autre part, entre la différence entre le pool de K extractible au réactif Tamm et le pool $Exch_K$ (**Fig VI-13**). Le réactif Tamm, bien que non sélectif, dissout principalement les (hydr)oxydes de Fe et Al peu ou mal cristallisés ainsi que des aluminosilicates amorphes. Ces derniers peuvent développer des sites d'échanges spécifiques au K (van Reeuwijk and de Villiers 1968; Sticher 1972). La spécificité de ces sites d'adsorption pourrait ensuite rendre le potassium adsorbé non-extractible à l'acétate d'ammonium. Il est aussi possible que ces sites se retrouvent occlus dans des agrégats supramoléculaires (comme discuté pour le Ca). Une précédente expérimentation de dilution isotopique suggérait également que le pool Tamm labile de K était principalement lié aux phases amorphes d'aluminosilicates (van der Heijden et al. 2018).

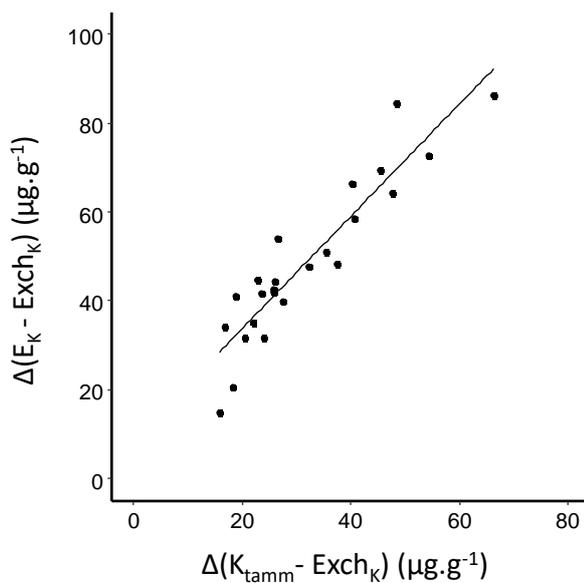


Figure VI-13. Relation entre la différence du pool isotopiquement échangeable (E_K) et le pool échangeable conventionnel de K ($Exch_K$) et la différence du pool de K extractible au réactif Tamm (K_{tamm}) et le pool échangeable conventionnel de K. La droite représente la régression linéaire.

3.3. Magnésium

Contrairement au Ca et K, des quantités analytiquement significatives de traceur de Mg dans le compartiment HNO_3 n'ont été trouvées que pour 19% du jeu de données. Il est possible que la dynamique du Mg diffère grandement du Ca et K et que le pool source/puits de Mg dans le sol soit quasi-intégralement constitué de Mg échangeable extractible avec un sel concentré (méthodes conventionnelles). En effet, comparé au Ca et K, les ratios $E_{\text{Mg}}:\text{Exch}_{\text{Mg}}$ étaient plus proches de 1 et peu d'échantillons avaient des ratios supérieurs à 2 : 34%, 10% et 22.5% des échantillons respectivement pour le Ca, Mg et K. (**Fig VI-5**). De plus, la comparaison entre dispositifs expérimentaux (agitation et percolation) a montré une forte similitude entre les approches pour les pools E_{Mg} , contrairement au Ca et K. Ces résultats suggèrent que, quelle que soit l'approche utilisée, les pools E_{Mg} et Exch_{Mg} restent proches. L'ensemble de ces observations pourraient appuyer l'hypothèse que la contribution d'autres phases du sol est généralement plus faible pour le Mg.

Cependant, il est aussi possible que la différence entre le Mg d'une part et le Ca et K d'autre part soit liée au design expérimental. La quantité de traceur apportée pourrait avoir été insuffisante pour marquer efficacement les phases du sol. En effet, les quantités de traceur isotopique apporté pour le Mg étaient plus faibles : 10 μg , 40 μg et 25 μg respectivement pour le Mg, Ca et K. De plus, comparativement au Ca et K, de larges quantités de Mg ont été extraites lors de l'extraction à l'acide nitrique (pool HNO_3 de Mg) très probablement dû à l'altération chimique de minéraux porteurs de Mg (*e.g.* biotite, muscovite, vermiculite, chlorite). En conséquence, le ratio molaire de la quantité de traceur apporté sur le pool extrait à HNO_3 était plus faible pour le Mg (0.074), que pour le Ca (1.33) ou K (0.246). Ainsi, il est probable que les larges quantités de Mg retrouvées dans l'extraction nitrique combinées à une plus faible quantité de traceur de Mg apportée ont entraîné une forte dilution isotopique (mesures isotopiques sous le seuil de détection).

Pour le nombre restreint d'échantillons pour lesquels des quantités de traceurs ont été retrouvés dans le pool HNO_3 de Mg, aucune relation significative n'a été mise en évidence avec les autres variables du jeu de données. Bien que la mise en évidence et l'identification de phases porteuses des pools E_{Mg} autre que les pools de Mg extractible à l'acétate d'ammonium n'a pas été possible à travers le jeu de données de ce travail de thèse, dans une étude préliminaire utilisant une approche similaire de dilution isotopique, il a été montré que des phases du sol extraites par les

réactifs Tamm et HNO_3 contribuaient (jusqu'à 11%) au pool de Mg en équilibre géochimique avec la solution sur un profil de sol du site de Breuil-Chenue (van der Heijden et al. 2017).

4. Contribution de la mesure des pools biodisponibles de cations nutritifs par dilution isotopique à la compréhension de l'évolution de la fertilité chimique du sol

Une étude diachronique a été réalisée sur 11 sites du réseau Renecofor pour lesquelles deux campagnes d'échantillonnages ont été réalisées entre 1993-1995 pour la première campagne et entre 2007-2012 pour la seconde campagne. Les évolutions de différentes variables d'analyses physico-chimiques conventionnelles ainsi que des évolutions de variables obtenues par l'approche isotopique ont été investiguées et comparées pour étudier les évolutions de la fertilité chimique des sols des écosystèmes forestiers. La base de données comprenait 33 échantillons individuels (3 couches prélevés par sites). A partir de ce pool initial d'échantillon, trois sous-ensembles ont été exploités pour cette étude :

- La base de données d'analyses de sol conventionnelles qui comprenait 33 échantillons ;
- La base de données des pools E_{Ca} , E_{Mg} et E_{K} (après étape de validation) qui comprenait 13 échantillons pour le Ca (8 sites) et 18 échantillons pour le K (9 sites). Pour le magnésium, le jeu de données de pool E_{Mg} ne comportait que 2 échantillons pour lequel il n'a pas été possible d'investiguer des évolutions à travers cette variable ;
- La base de données d'extraction de sol (après étape de validation) qui comprenait 26 échantillons pour le Ca (10 sites), 8 échantillons pour le Mg (6 sites) et 18 échantillons pour le K (9 sites).

Sur l'ensemble du jeu de données d'analyses physico-chimiques conventionnelles du sol, des différences statistiquement significatives ont été observées pour un certain nombre de variables mesurées entre les deux campagnes : 13 échantillons sur 33 pour le taux de saturation (S/T), 11 pour le Ca^{2+} échangeable, 15 pour le Mg^{2+} échangeable, 14 pour K^+ échangeable et 24 pour H^+ échangeable. En utilisant le S/T comme indicateur de l'évolution de la fertilité chimique des sols des 11 sites, trois sous-ensembles ont pu être définis parmi les 33 échantillons étudiés (**Fig VI-14**). Pour un premier sous-ensemble, le S/T a diminué entre les deux campagnes (groupe 1). Pour un second, le S/T n'a pas ou très peu évolué (groupe 2). Pour un troisième (groupe 3), une augmentation du S/T a été observée entre les deux campagnes.

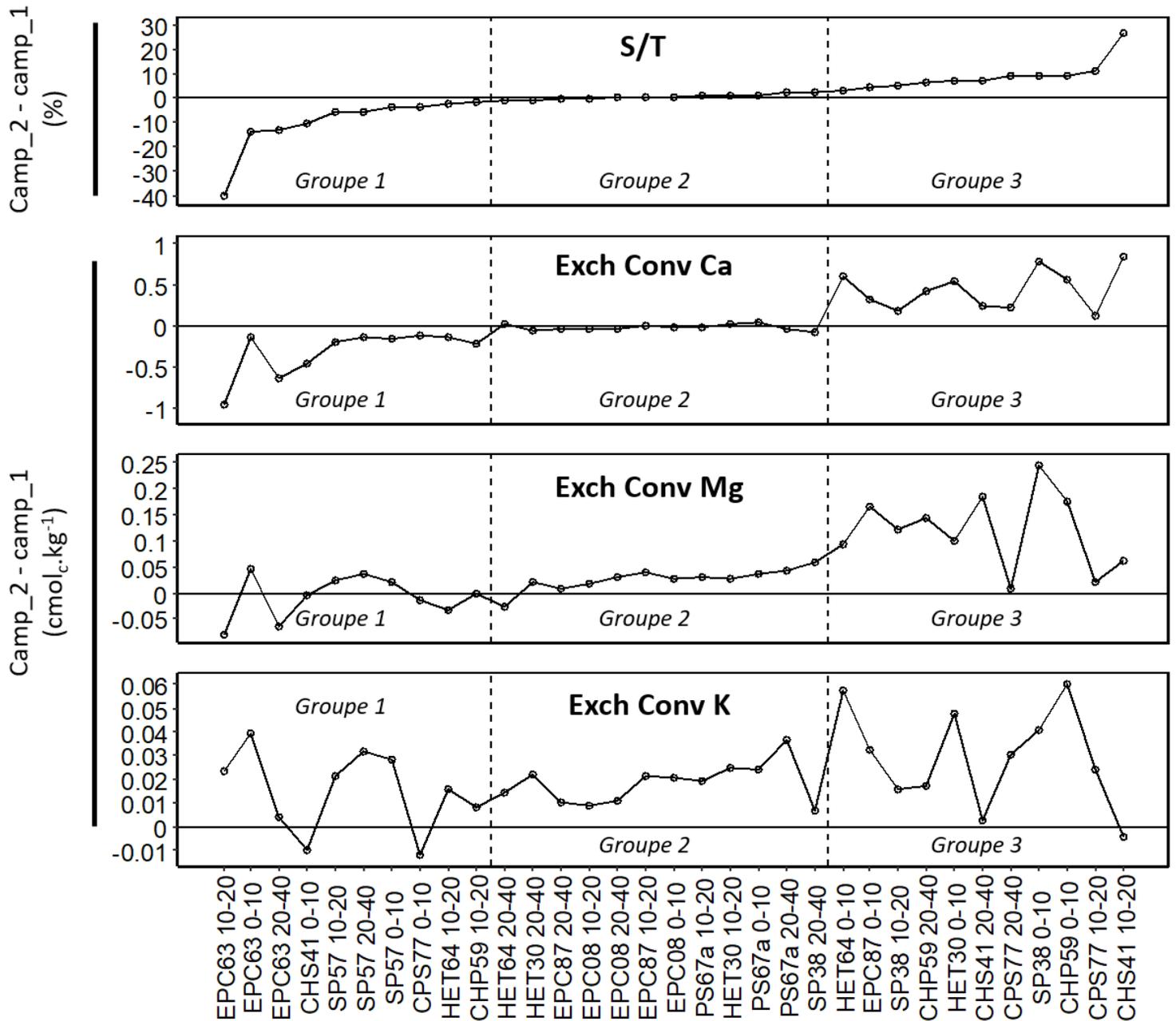


Figure VI-14. Distribution des évolutions des taux de saturation (S/T) et des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K (Exch Conv Ca, Exch Conv Mg, Exch Conv K) des 33 échantillons étudiés. Les échantillons sont classés selon le critère d'évolution du taux de saturation entre les deux campagnes de prélèvement : diminution du S/T (groupe 1), pas ou peu d'évolution du S/T (groupe 2) et augmentation du S/T (groupe 3).

4.1. Amélioration de la fertilité: Groupe 3

Le groupe 3 rassemble des échantillons de sol dont l'évolution d'un certain nombre d'indicateurs tend à suggérer l'amélioration du niveau de fertilité chimique des sols.

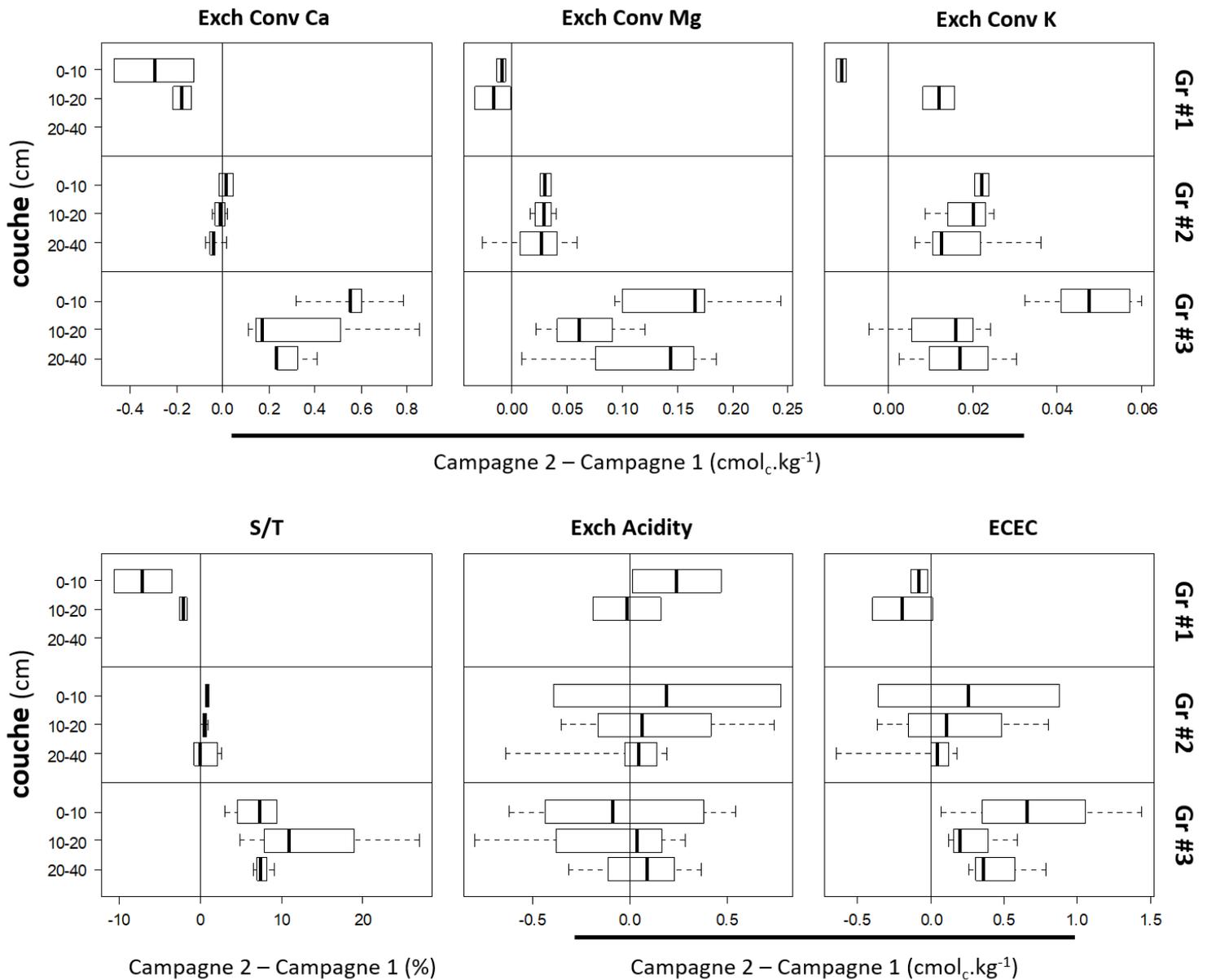


Figure VI-15. Distribution les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ($\text{Exch Conv}_{\text{Ca}}$, $\text{Exch Conv}_{\text{Mg}}$ et $\text{Exch Conv}_{\text{K}}$) et des évolutions du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange ($\text{Exch}_{\text{acidity}}$) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.

Augmentation des pools échangeables conventionnels

L'augmentation de la capacité d'échange cationique entre les deux campagnes (**Fig VI-15**) suggère l'augmentation du nombre de sites d'échanges 'actifs', qui pourrait être expliquée par l'augmentation du pH_{eau} observé pour la majorité des échantillons de ce groupe (**Fig VI-16**). Ceci pourrait avoir permis d'augmenter la part des charges variables dans la capacité d'échange cationique en favorisant la déprotonation de groupements fonctionnels tels que les groupements carboxyles des acides organiques. Les augmentations conjointes des pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ainsi que du taux de saturation associé au fait que l'acidité d'échange n'avait en moyenne, pas évolué pour ce groupe, suggère que non seulement la capacité d'échange cationique a augmenté mais également que le complexe d'échange s'est resaturé en bases échangeables.

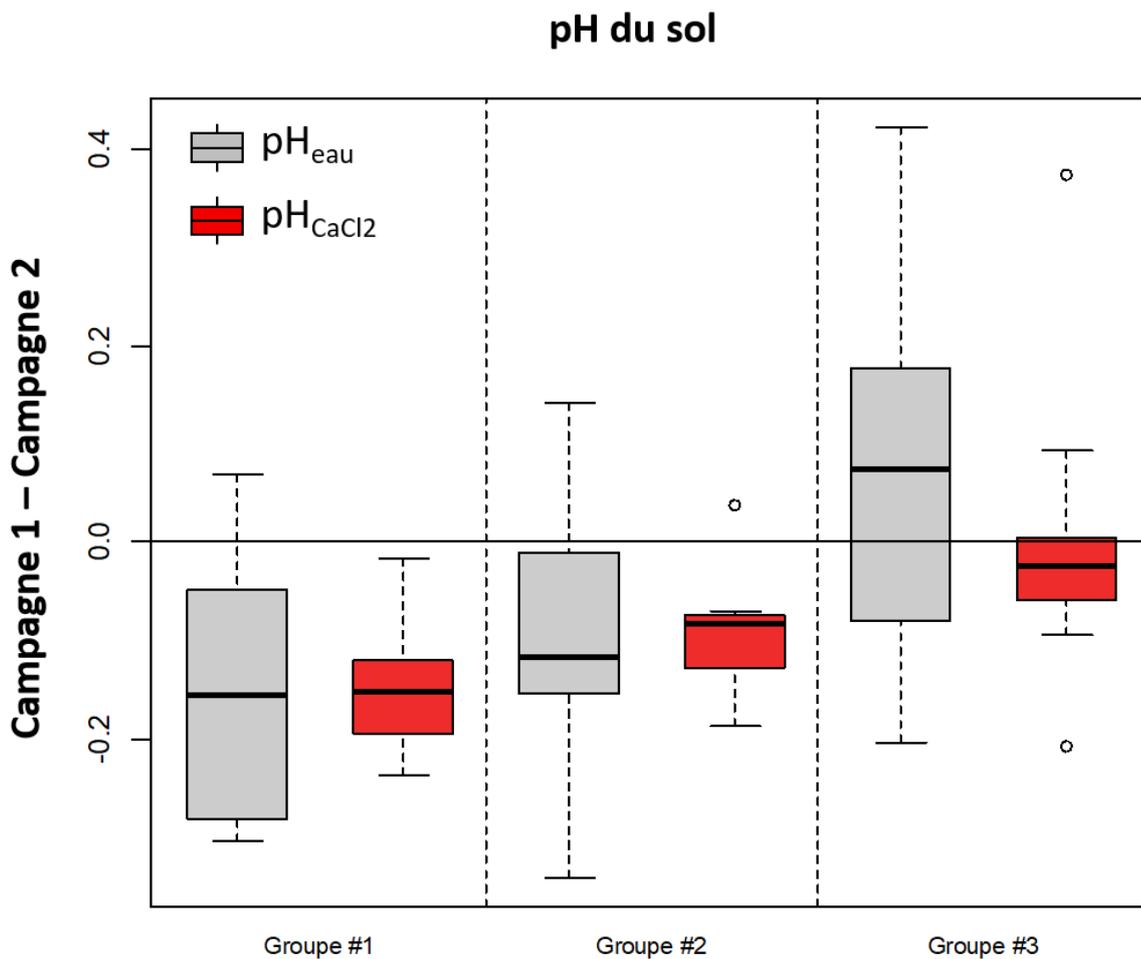


Figure VI-16. Distribution pour les trois groupes des évolutions des pH_{eau} et pH_{CaCl2} des sols entre les deux campagnes.

Stockage dans les phases autres qu'échangeables

Plusieurs indicateurs suggèrent également un stockage de Ca, Mg et K dans des phases autres qu'échangeables du sol. En effet, les pools E_{Ca} , et E_K , les pools nitriques (extractible à l'acide nitrique) de Ca, Mg et K et les pools nitriques isotopiquement échangeables de Ca ont augmenté entre les deux campagnes (**Fig VI-17**). Les résultats observés pour ce groupe 3 montrent que les pools, autres que les pools échangeables conventionnels, peuvent effectivement jouer le rôle de puits de cations lorsque leur disponibilité dans le sol augmente, contribuant ainsi à leur maintien sur le moyen à long-terme dans le système sol-plante.

L'augmentation des pools échangeables et isotopiquement échangeables montrent que pour ces horizons de sol, les flux d'entrée ont excédé les flux de sorties (bilan de masse positif) pour ces horizons. Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer une augmentation du flux d'entrée de cations nutritifs :

- Bien que l'augmentation des pools échangeables de Ca, Mg et K dans les horizons superficiels du sol (0-10cm) était plus forte comparée aux horizons 10-20cm et 20-40cm (**Fig VI-15**), il semble peu probable que cette augmentation soit expliquée par une libération des cations nutritifs contenus dans la matière organique du sol suite à une **accélération de la décomposition de la matière organique du sol** puisque une augmentation de la teneur en carbone dans les horizons 0-10 cm a été observé (**Fig VI-18**). (Jonard et al. 2017), dans une étude portant sur les évolutions des stocks de carbone, ont également montré, sur les 102 placettes du réseau Renecofor, que les sols avaient en moyenne accumulés $0.35 \text{ MgC} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ entre 1993 et 2012.

En revanche, cette augmentation de la teneur en carbone explique probablement la plus forte augmentation de la capacité d'échange cationique dans l'horizon 0-10 cm ainsi que l'augmentation des pools échangeables de Ca, Mg et K et la baisse du $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ du sol dans cet horizon. Comme démontré dans les parties précédentes, la matière organique du sol joue un rôle important dans la rétention du calcium dans le sol sous une forme disponible mais non quantifiée par les analyses de sol conventionnelles. Les plus fortes augmentations pour cet horizon des pools nitriques de Ca (extraction à l' HNO_3) ainsi que du pool de Ca isotopiquement échangeable dans l'extraction HNO_3 du sol pourrait soutenir cette hypothèse.

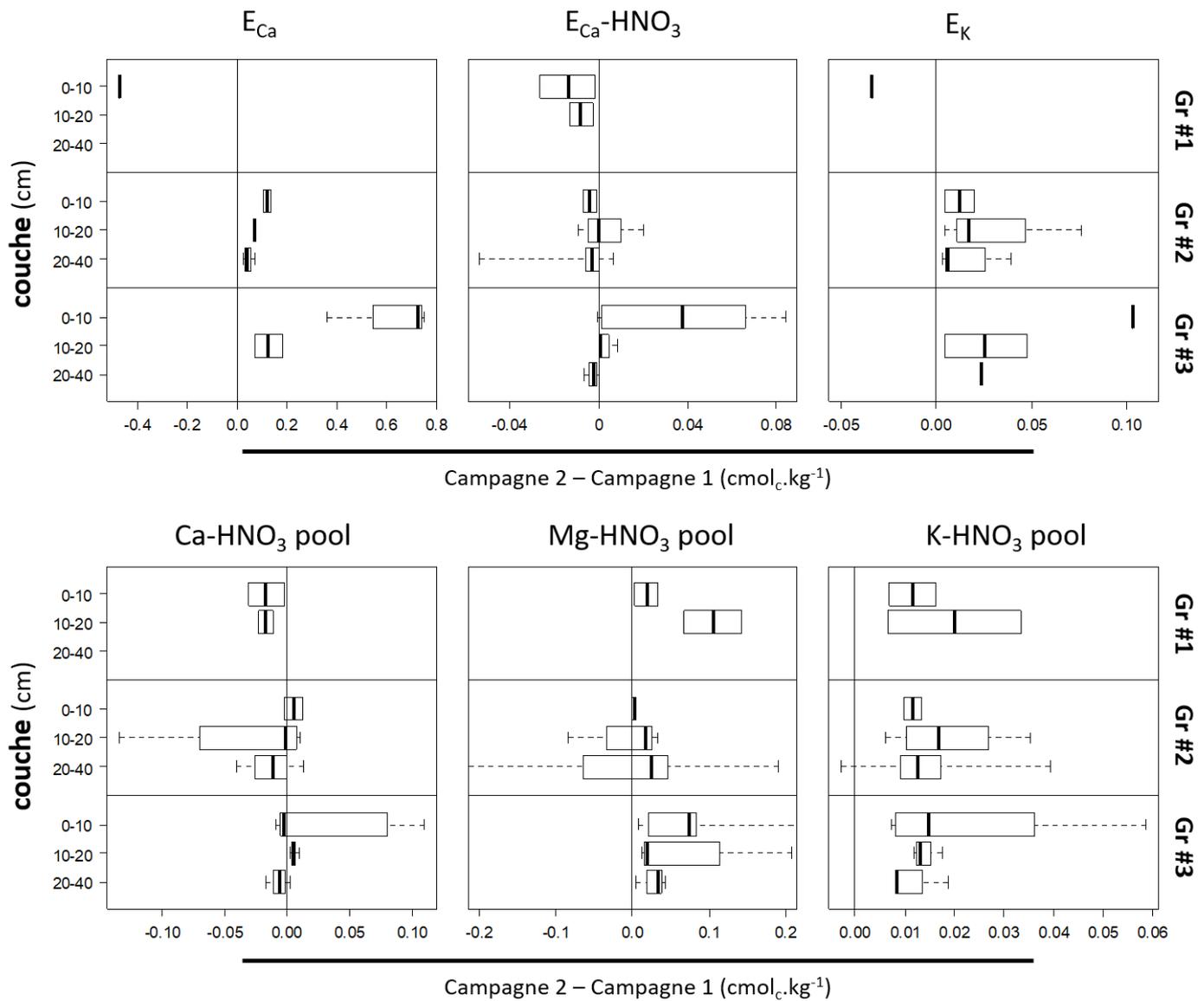


Figure VI-17. Distribution les trois groupes et par couche de sol, des évolutions de pools isotopiquement échangeables de Ca et K (E_{Ca} , E_K), du pool isotopiquement échangeable de Ca extrait par la méthode HNO_3 ($E_{Ca} - HNO_3$) et des pools de Ca, Mg et K extraits par la méthode HNO_3 entre les deux campagnes. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.

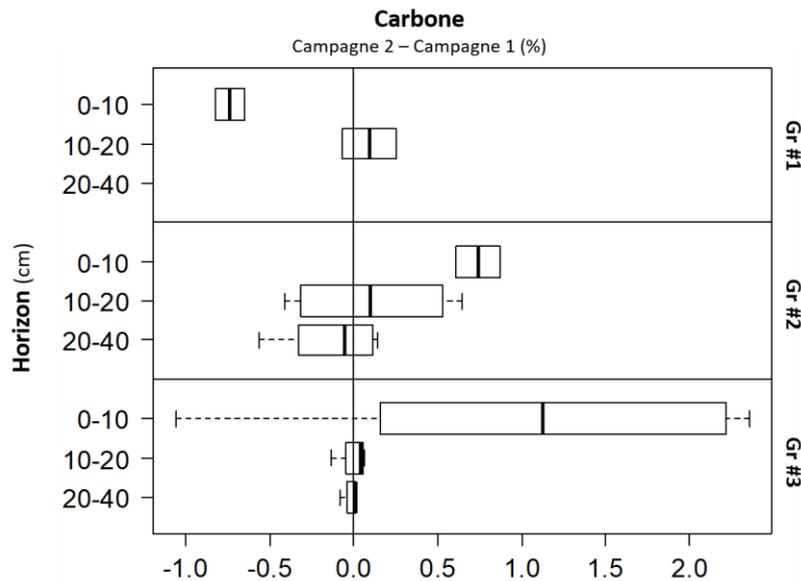


Figure VI-18. Distribution pour les trois groupes, des évolutions de la teneur en carbone totale des sols en fonction de la profondeur entre les deux campagnes. Les sites SP57 et EPC63 (groupe 1) ont été retirés de cette figure.

- Flux d'entrée de cations nutritifs par **les dépôts atmosphériques**. La plus forte augmentation des pools échangeables de Ca, Mg et K dans les horizons superficiels du sol (0-10cm) comparée aux horizons 10-20cm et 20-40cm peut également soutenir cette hypothèse. Toutefois, une augmentation de la contribution des apports atmosphériques semble peu probable puisque, d'une manière générale, des diminutions plutôt que des augmentations des apports atmosphériques sont observés dans les écosystèmes forestiers européens et nord-américains (Federer et al. 1989; Jonard et al. 2012).
- Flux d'**altération minérale**. Cette hypothèse semble la plus probable et est soutenue par la plus forte augmentation du S/T dans les horizons 10-20cm et 20-40cm ainsi que par la forte augmentation du Mg échangeable dans l'horizon 20-40cm. De plus, les échantillons composants le groupe 3 se caractérisent par une richesse minéralogique généralement plus importante : les pools nitriques de Ca, Mg et K étaient supérieurs aux échantillons des deux autres groupes (données de la campagne 1). Cette richesse minéralogique et le potentiel d'altération minérale associé est aussi en accord avec les analyses physico-chimiques de la campagne 1 (**Fig VI-19**). Le groupe 3 est composé d'échantillons de sol dont les propriétés

(pools échangeables de Ca, Mg et K, CEC, S/T, $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$) indiquent un niveau de fertilité chimique supérieur aux groupes 1 et 2.

4.2. Etat stationnaire ou légère dégradation: Groupe 2

Le groupe 2 est représenté par les échantillons de sol pour lesquels aucune ou une très faible évolution a été observée entre les deux campagnes de prélèvement.

Des faibles niveaux de fertilité initiale entraînant des faibles évolutions

En termes d'évolution, les pools de Ca échangeable sont restés stables tandis que les pools de Mg et K échangeables ont légèrement augmenté entre les deux campagnes (**Fig VI-15**). Ces faibles évolutions des pools échangeables de Ca, Mg et K peuvent s'expliquer par les plus faibles pools échangeables de Ca, Mg et K mesurés lors de la campagne 1 (**Fig VI-19**). Les valeurs de capacités d'échange cationique (valeur de la campagne 1) se situaient en moyenne et en général entre celles des groupes 2 et 3. En revanche, les pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K étaient, en moyenne et en général, les plus faibles des trois groupes (notamment pour le Ca) tandis que l'acidité d'échange y était en moyenne plus importante comparativement aux deux autres groupes. La saturation du complexe d'échange en bases échangeables était très faible, dépassant rarement les 10%. Il n'est donc pas surprenant que compte tenu du niveau de fertilité chimique initial, les pools n'aient pas fortement évolué entre les deux campagnes. L'ensemble des indicateurs suggère de faibles apports par altération minérale (**Fig VI-20**). Par ailleurs, l'acidification observée pour ces échantillons de sol (diminution du pH_{eau} en moyenne entre les deux campagnes ; **Fig VI-16**) ne semble pas avoir été accompagnée de pertes en cations nutritifs au vu des capacités d'échange cationique et des taux de saturation restés stables entre les deux campagnes (**Fig VI-15**).

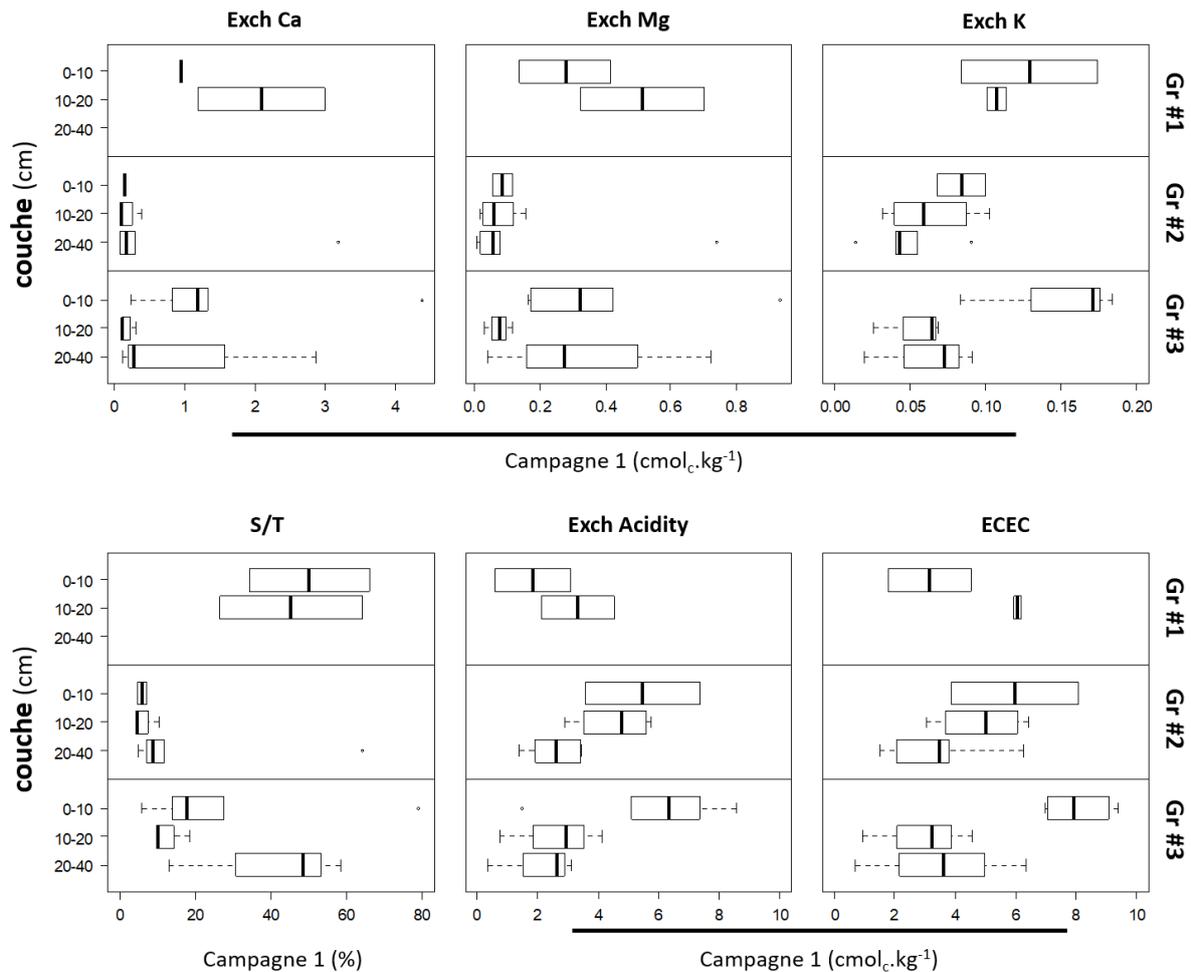


Figure VI-19. Distribution pour les trois groupes et en fonction de la profondeur, des valeurs de pools échangeables conventionnels de Ca, Mg et K ($Exch_{Ca}$, $Exch_{Mg}$ et $Exch_K$) ainsi que du taux de saturation (S/T), de l'acidité d'échange ($Exch_{acidity}$) et de la capacité d'échange cationique (ECEC) de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.

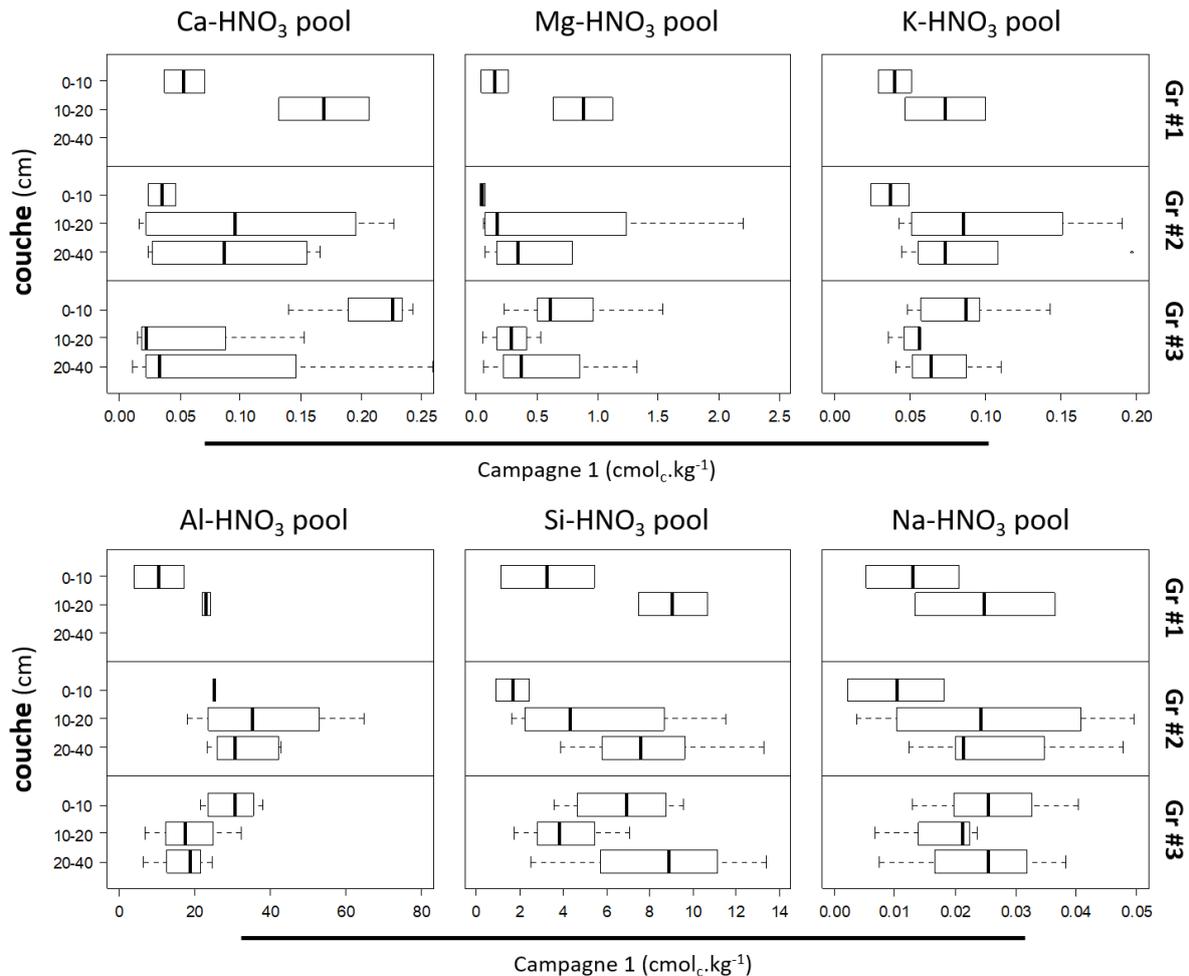


Figure VI-20. Distribution pour les trois groupes et par couche de sol, des valeurs de pools de Ca, Mg, K, Al, Si et Na extraits par la méthode HNO₃ de la première campagne de prélèvement. Les sites EPC63 et SP57 (groupe 1) ont été retirés de ces figures.

Contribution des phases secondaires non-cristallines à maintenir les niveaux de fertilité

Il est aussi probable que des sources d'entrée de Ca, Mg et K ont permis de compenser les flux de sorties.

- Pour le calcium, les résultats suggèrent que des phases secondaires non-cristallines porteuses de Ca et extractibles par un acide fort (HNO₃ 1 mol.L⁻¹) ont contribué à tamponner les pools échangeables de Ca. La diminution des pools HNO₃ de Ca ainsi que la légère diminution des pools isotopiquement échangeable de Ca dans l'extraction HNO₃ (**Fig VI-17**) suggèrent un transfert de calcium i) soit par des processus d'échanges entre la fraction géochimiquement réactive du pool HNO₃ de Ca et la solution du sol et/ou le pool échangeable conventionnel et/ou ii) soit par l'altération des phases non-cristallines.

Les échantillons composant le groupe 2 étaient caractérisés d'une part, par des quantités non négligeables de Ca extractible par la méthode nitrique (pool nitrique de Ca de la campagne 1 ; **Fig VI-20**) et d'autre part, par des contributions relatives du pool nitrique de Ca aux pools E_{Ca} très supérieures comparativement aux groupes 2 et 3 (campagne 1). La contribution de ces pools isotopiquement échangeable non-extractible à l'ammonium a donc vraisemblablement été suffisante pour maintenir les pools échangeables conventionnels de Ca pour la majorité des échantillons de ce groupe 2.

- Pour le Mg et K, l'augmentation, en moyenne et en général, des pools HNO_3 de Mg et K (**Fig VI-17**) ainsi que des pools $Exch_Conv_{Mg}$ et $Exch_Conv_K$ (**Fig VI-15**) suggèrent une accumulation et un stockage à la fois dans les phases échangeables et non-échangeables. Cette hypothèse pourrait être expliquée par un flux d'entrée net de ces deux cations à travers un flux d'altération. A l'instar du Ca, sans apport de Mg et K par altération, une diminution des pools de Mg et K extractibles à l'acide nitrique auraient été observée. La différence de dynamique observée entre d'une part le Ca et d'autre part le Mg et K, pourrait être expliquée par une différence de richesse minéralogique, si les minéraux du sol contiennent relativement plus de Mg et de K que de Ca. En effet, les sols de la première campagne du groupe 2 avaient d'importants pools de Mg, K, Na et Si extractibles par la méthode HNO_3 (**Fig VI-20**), ce qui suggère un potentiel d'altération minérale dans ces sols. Par exemple, sur le site EPC08 (dont les trois horizons de sol ont été classés dans le groupe 2), le flux d'altération minérale a été estimé à $37 \text{ mol}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ pour le Ca, $86 \text{ mol}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ pour le Mg et $138 \text{ mol}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$ pour le K.

L'ensemble de ces résultats souligne la contribution des phases porteuses de Ca, Mg et K du sol, extractibles par un acide fort et de leur rôle comme source (tampon de la biodisponibilité du Ca) et de puits (stockage de Mg et K). Néanmoins, les échantillons de sol du groupe 2 représentent des niveaux de fertilité à l'origine faibles. Malgré des réserves de Ca, Mg et K dans des phases secondaires non-cristallines plus importantes que les autres groupes, ces dernières sont susceptibles de s'appauvrir (notamment pour le Ca) et ne plus suffire à tamponner les pertes de cations nutritifs.

4.3. Dégradation de la fertilité: Groupe 1

Ce sous-ensemble regroupe des échantillons de sol avec des propriétés physico-chimiques du sol très variées et dont les évolutions observées au cours du temps ont probablement des origines/explications très différentes.

Les sites EPC63 et SP57 se démarquent par une tendance marquée à la dégradation du niveau de fertilité sur l'ensemble de leurs profils. Cette observation est vraisemblablement expliquée par la dynamique du soufre dans les sols en lien avec l'évolution des dépôts atmosphérique. Comme dans de nombreux sites, du soufre s'est accumulé dans les sols au cours du XX^{ème} siècle lorsque les dépôts atmosphériques d'origine anthropique étaient très élevés (Reuss and Johnson 1986; Hedin and Likens 1996; EEA 2020). Les différences de substrat géologique et de type de sol entre EPC63 (mollic andosol développé sur scories basaltiques et trachytiques) et SP57 (dystric cambisol développé sur une altérite sableuse de grès vosgiens) induit des mécanismes et une réponse différente aux évolutions de soufre en solution :

- Pour SP57, il a été montré que de larges pools de sulfate se sont constitués suite à leur adsorption sur les particules de sols (essentiellement les (hydr)oxydes de fer et d'aluminium, très abondants dans ce sol acide développé sur Grès vosgien) (van der Heijden et al. 2011) ;
- Pour EPC63, il est probable que du soufre se soit accumulé par précipitation de minéraux sulfatés. En effet, il a été montré que la dynamique du soufre dans les andosols est très différentes des autres types de sol (Delfosse et al. 2005) ; en présence d'une concentration élevée de sulfate en solution, des minéraux tels que l'alunite $[KAl_3(SO_4)_2(OH)_6]$, la basaluminite $[Al_4SO_4(OH)_{10}.5(H_2O)]$ et la jurbanite $[AlSO_4OH.5(H_2O)]$ peuvent précipiter et s'accumuler dans le sol.

Depuis l'installation des sites en 1993, il a été observé une diminution des dépôts atmosphériques et des concentrations de sulfates dans les solutions de sol (Johnson et al. 2018). La diminution de sulfate en solution a pu entraîner :

- Une possible dissolution progressive des minéraux (EPC63) qui permet de maintenir un flux de lixiviation élevée en sulfate. Ce flux de sulfate dans le profil de sol est susceptible d'avoir entraîné des pertes élevées de cations nutritifs, ce qui pourrait expliquer les différences de pools observées entre les deux campagnes de prélèvement de sol (**Fig VI-21**). Comme les minéraux sulfatés qui ont été observés dans les andosols contiennent de l'aluminium mais très peu de cations nutritifs excepté le potassium, la

libération d'aluminium et potassium par l'altération de ces minéraux explique probablement l'augmentation de l'Al échangeable sur ce site. Cela pourrait expliquer la désaturation de la capacité d'échange en calcium et magnésium. La plus forte teneur en K de ces minéraux sulfatés et leur altération pourrait expliquer les augmentations de K échangeables.

- La désorption du pool de sulfate adsorbé pour le site SP57, qui entraîne un flux de lixiviation en sulfate et en cations dans le sol et ainsi une acidification continue et graduelle du sol.

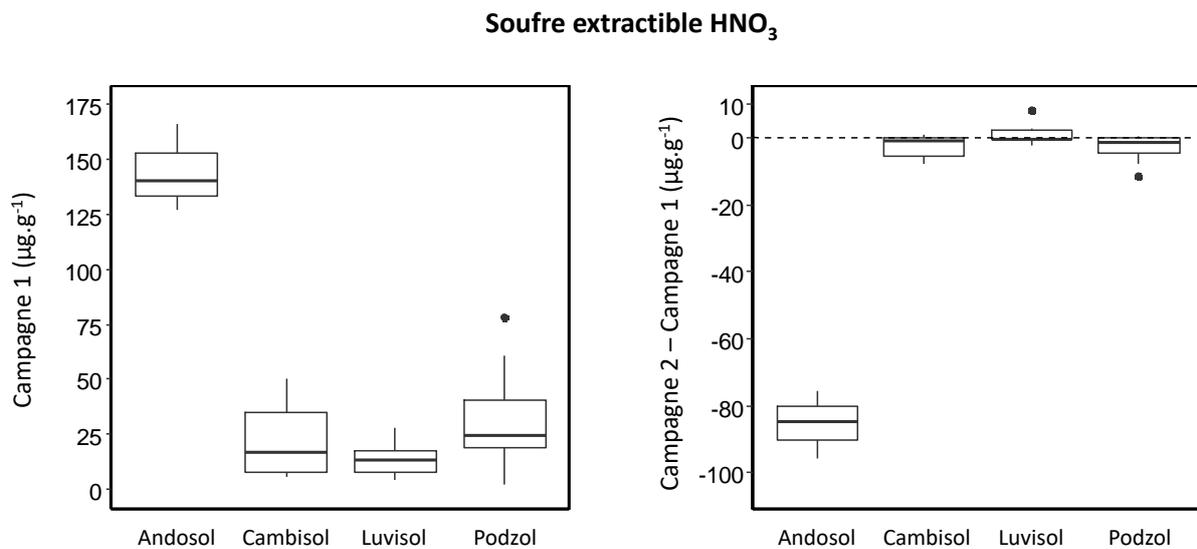


Figure VI-21. Comparaison des teneurs en soufre extractibles à l'acide nitrique et de leur évolution entre les deux campagnes de prélèvement en fonction du type de sol. Le type de sol andosol n'est représenté que par le site EPC63.

Le classement des autres échantillons de sol dans le groupe 1 était plus surprenant puisque ces échantillons sont issus de profil de sol dont les autres horizons sont classés dans le groupe 3 et pour lesquels une amélioration de la plupart des indicateurs de fertilité chimique du sol a été observée. Les horizons 10-20 cm des sites CHP59 et HET64 sont inclus dans le groupe 1 alors que les horizons 0-10 cm et 20-40 cm de ces mêmes sites sont classés dans le groupe 2 ou 3. Puisque la diminution du S/T dans ces horizons 10-20 cm des sites CHP59 et HET64 est faible et non significative (**Table V-3**), il est probable que la fertilité chimique de cet horizon ne se soit pas dégradée entre les deux campagnes.

Les horizons 0-10 cm des sites CHS41 et CPS77. Bien que la diminution du S/T ne fut pas significative, une dégradation de la fertilité chimique semble plus probable compte tenu des diminutions significatives des pools échangeables conventionnels de Ca et du $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ observées respectivement sur CHS41 et CPS77. Pour ces deux sites, malgré un S/T relativement élevé lors de la campagne 1, la capacité d'échange cationique était relativement faible en comparaison avec le reste du jeu de données. De plus, les pools nitriques de Ca, Mg et K pour ces deux horizons étaient également parmi les plus faibles de l'ensemble du jeu de données, ce qui suggère de faibles réserves de Ca, Mg et K stockées dans des phases du sol autres qu'échangeables et un potentiel d'altération minérale associé restreint. Ces faits pourraient expliquer pourquoi ces horizons de sol voient leur fertilité chimique se dégrader entre les deux campagnes. Cette dégradation même légère est néanmoins surprenante puisque les pools échangeables de Ca, Mg et K ont augmenté dans les horizons 10-20 cm et 20-40 cm de ces deux sites : il est surprenant que, dans un tel contexte, le niveau de fertilité chimique de l'horizon de surface ne soit pas au moins maintenu ou amélioré par le cycle biologique des cations nutritifs qui permet d'accumuler les nutriments dans les horizons superficiels

5. Estimation des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K par des approches indirectes

Les précédentes parties ont permis de mettre en évidence que l'approche isotopique semble être l'approche la plus adéquate pour quantifier et tracer les pools source/puits de Ca, Mg et K en équilibre géochimique avec la solution du sol. Comparativement, les méthodes conventionnelles d'extraction des pools échangeables avec une solution saline concentrée semblent de manière générale sous-estimer ces pools. Toutefois, l'approche isotopique à travers l'utilisation de matériel isotopique présente des inconvénients (onéreux, nécessite du matériel et des connaissances spécifiques, risque de pollution des échantillons importantes) limitant son utilisation en analyse de routine.

5.1. Influence de la nature du réactif utilisé pour mesurer les pools échangeables conventionnels sur la différence entre ces pools et les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K

L'ensemble du jeu de données exploitées dans ce projet de thèse est issu de la concaténation de différentes bases de données pour lesquels différents protocoles ont été utilisés pour les analyses conventionnelles des sols. Sur l'ensemble du jeu de données, les pools échangeables de Ca et Mg ont été mesurés par une extraction au BaCl_2 , KCl , au NH_4Cl ou au chlorure de cobalthexamine. Pour le K, les pools échangeables conventionnels ont été mesurés par une extraction au BaCl_2 , chlorure de cobalthexamine ou au NH_4Cl . Pour cette partie, l'ensemble du jeu de données du système en agitation a été utilisé, intégrant les deux campagnes de prélèvements de sol du réseau Renecofor. Le groupe d'échantillons dont les pools échangeables conventionnels de Ca et Mg ont été mesurés par une extraction au NH_4Cl n'était représenté que par un seul site (site de Fougères). Pour des questions de représentativité, ces échantillons n'ont pas été considérés ici.

Calcium

Pour le calcium, les résultats suggèrent que, quel que soit le réactif utilisé, un biais subsiste entre les pools échangeables conventionnels de Ca et les pools E_{Ca} (**Fig VI-22a**). Néanmoins, les différences entre les pools E_{Ca} et les pools échangeables mesurés par une extraction au BaCl_2 et dans une moindre mesure au Cl -cobalthexamine sont plus faibles comparativement aux pools échangeables mesurés par une extraction au KCl . L'origine de ces différences pourrait être expliquée par des propriétés physico-chimiques différentes entre les réactifs utilisés pour extraire les pools échangeables conventionnels. En effet, le baryum (BaCl_2) possède des structures électroniques analogues au Ca et a une forte affinité pour les matières organiques (Myrvang et al. 2016). Ces propriétés du Ba lui confèrent une sélectivité d'échange Ba-Ca plus forte que le potassium. Bien que la concentration en calcium dans le réactif d'extraction KCl soit plus élevée, ces résultats suggèrent que le réactif BaCl_2 est plus efficace pour extraire les pools source/puits de Ca dans le sol. Les pools échangeables mesurés par la cobalthexamine étaient également proches des pools E_{Ca} , mais ce résultat est à nuancer compte tenu de la faible représentativité du groupe d'échantillons dont les pools échangeables conventionnels ont été extraits avec du chlorure de cobalthexamine (2 sites).

La distribution du jeu de données en fonction des pools échangeables conventionnels de Ca (**Fig VI-22b**) montre que, pour les trois méthodes d'extraction et de manière générale, les pools échangeables conventionnels étaient similaires aux pools isotopiquement échangeable pour les teneurs en calcium échangeable conventionnel les plus élevées du jeu de données (supérieurs à 0.27 cmolc/kg). En dessous de ce seuil, la majorité des échantillons présentaient des pools isotopiquement échangeables supérieurs aux pools échangeables conventionnels. Cette observation combinée à la différence de distribution des populations d'échantillons BaCl₂, CobHex et KCl pourrait aussi être à l'origine des différences d'efficacité d'extraction du Ca réactif (**Fig VI-22a**). En effet, la plus grande part des échantillons BaCl₂ et CobHex était supérieur à 0.27 cmolc/kg, alors que la plus grande part des échantillons KCl était inférieure à ce seuil. Il est possible qu'à des faibles concentrations de Ca sur le complexe d'échange, les méthodes d'extractions ne soient plus aussi efficaces. En effet, la probabilité d'échange d'un cation entre la phase solide et liquide est proportionnelle à sa concentration adsorbée sur la capacité d'échange cationique : lorsque la concentration en Ca sur la CEC diminue, la probabilité que le cation réactif (Ba²⁺, K⁺, etc.) s'échange avec du Ca diminue.

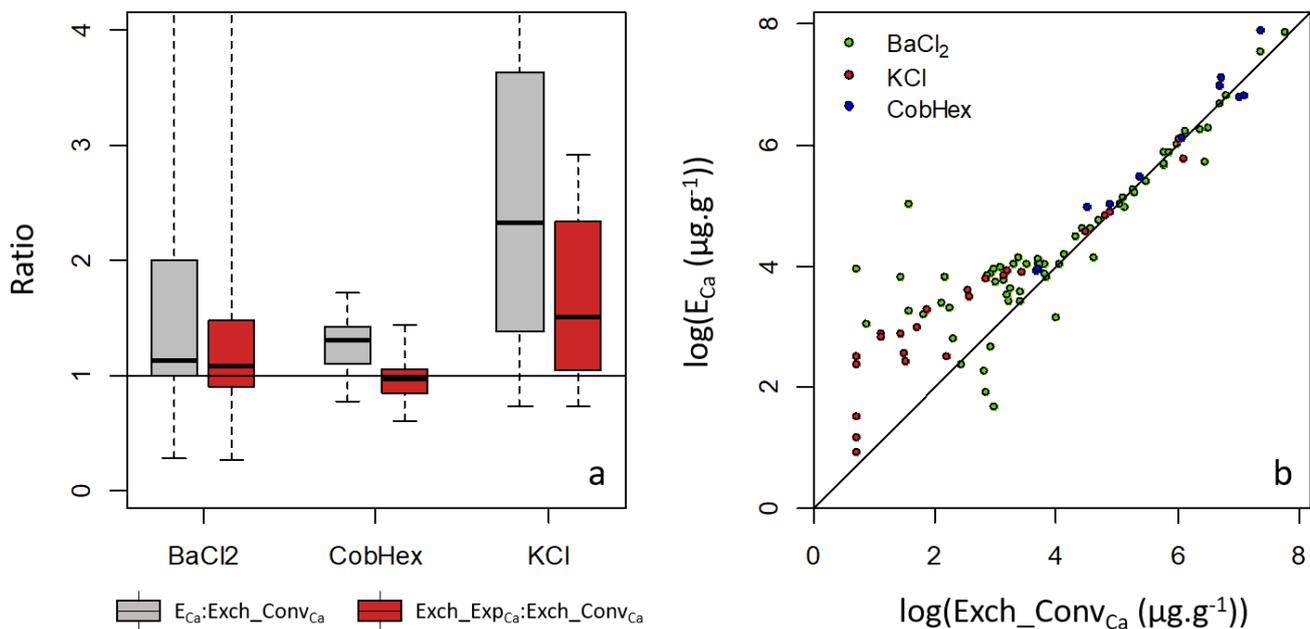


Figure VI-22. (a) Boxplot des ratios $E_{Ca}:Exch_Conv_{Ca}$, $E_{Ca}:Exch_Exp_{Ca}$ et $Exch_Exp_{Ca}:Exch_Conv_{Ca}$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_{Ca}) et des pools échangeables conventionnels de Ca ($Exch_{Ca}$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.

Potassium

Les pools échangeables conventionnels sous-estiment quasi-systématiquement les pools E_K et ce quel que soit le réactif utilisé (**Fig VI-23b**) mais le biais entre les pools échangeables conventionnels et isotopiquement échangeables de K diminuait pour les teneurs en K échangeable conventionnel les plus élevées. Les pools échangeables extraits avec le NH_4Cl et cobalthexamine étaient en général plus proche des pools E_K comparativement au $BaCl_2$ (**Fig VI-23a**).

Cette différence entre les réactifs pourrait être expliquée par leur capacité respective à extraire le potassium échangeable adsorbé sur des sites d'échanges spécifiques au potassium. En effet, le rayon d'hydratation du Ba est supérieur à celui du K alors que le rayon d'hydratation de l'ion NH_4^+ est plus proche du K. L'ion NH_4^+ possède une meilleure capacité à extraire le K des sites spécifiques comparativement au Ba ou au Cobalthexamine. Les résultats précédemment discutés (Bel *et.al.* 2020 ; chapitre 4) ont montré la contribution potentielle des pools de K spécifiques (*i.e.* frayed edge sites et K-interfoliaire) aux réactions d'équilibre avec la solution du sol. Il est donc probable que la capacité du NH_4Cl à extraire le K adsorbé sur des sites spécifiques explique la plus forte similarité entre les pools échangeables conventionnels et le pool E_K pour l'extraction NH_4^+ comparativement aux autres réactifs.

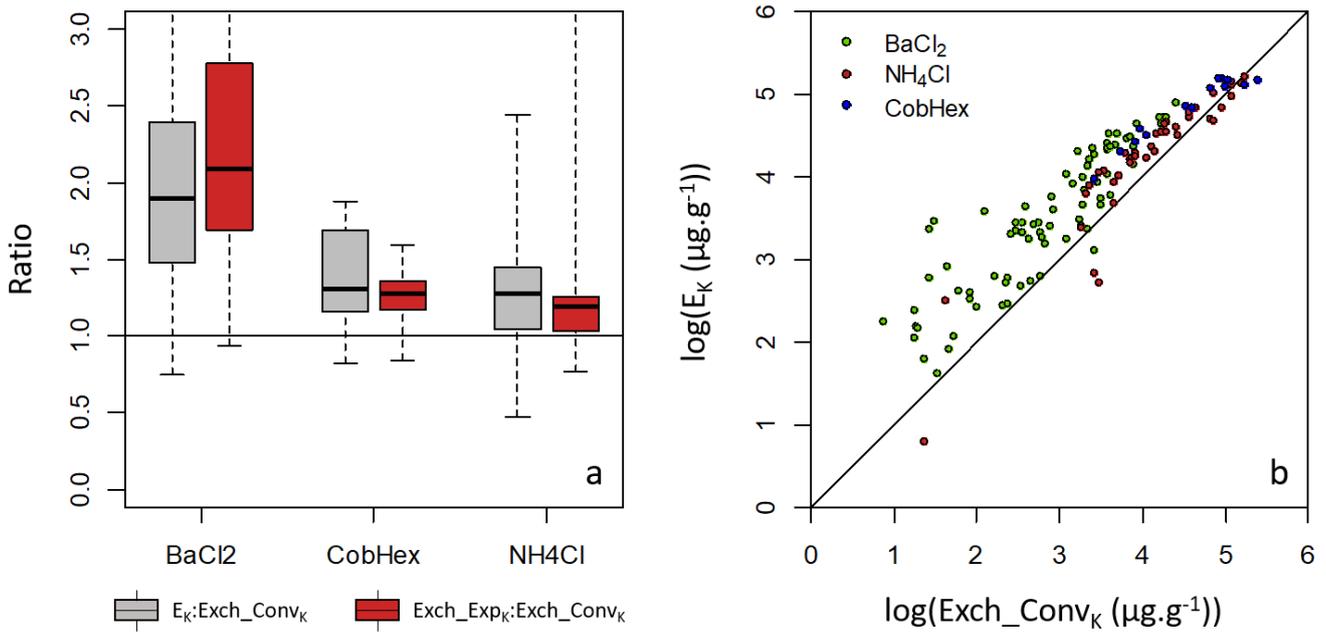


Figure VI-23. (a) Boxplot des ratios $E_K:Exch_Conv_K$, $E_K:Exch_Exp_K$ et $Exch_Exp_K:Exch_Conv_K$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_K) et des pools échangeables conventionnels de K ($Exch_K$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.

Magnésium

La comparaison des pools échangeables conventionnels de Mg selon les 3 différents réactifs montre une différence de comportement entre le Mg et Ca. Pour le Mg, les pools échangeables extraits au KCl étaient plus proches des pools E_{Mg} et moins variables comparativement au Ca (**Fig VI-24a**). Au vu des résultats discutés précédemment pour le Ca, il est surprenant que les pools échangeables de Mg extraits avec l'ammonium soient supérieurs aux pools extraits au Ba^{2+} . Le baryum semble être un réactif efficace pour extraire le calcium échangeable et adsorbé sur les matières organiques du sol. Il serait attendu que le baryum soit aussi efficace pour extraire le Mg puisque la sélectivité du Ca pour les sites d'échanges cationiques est soit comparable (pour les sites d'échanges d'origine minérale (Sposito et al. 1983; Gaston et al. 1993) soit supérieure (pour les sites d'échanges d'origine organique (Salmon 1964; André and Pijarowski 1977; Baes and Bloom 1988) à celle du Mg . Pour expliquer ces résultats, nous pouvons faire l'hypothèse que, dans certains sols, le magnésium s'adsorbe sur des sites d'échanges cationiques spécifiques au Mg ou du moins non-extractible avec des cations avec

un rayon d'hydratation plus élevé. Ces résultats soulignent aussi une nouvelle fois que les dynamiques du calcium sont très différentes de celles du magnésium. Toutefois, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour conclure sur cette dernière hypothèse.

Les résultats montrent aussi que, pour les quelques échantillons extraits à la cobalthexamine, cette méthode se rapproche le plus de la mesure des pools E_{Mg} . Toutefois, ce résultat est à nuancer compte tenu de la faible représentativité du groupe d'échantillons dont les pools échangeables ont été mesurés par une extraction à la cobalthexamine et ne comportant que deux sites.

L'ensemble de ces résultats ont permis de mettre en évidence que, dépendant de l'élément, les écarts entre le pool échangeable conventionnel et le pool isotopiquement échangeable variaient aussi en fonction du réactif utilisé pour mesurer le pool échangeable conventionnel. Les résultats de ces travaux suggèrent que le $BaCl_2$ est le réactif le mieux adapté pour les pools échangeables de Ca, le NH_4Cl pour les pools de K et la cobalthexamine pour les pools de Mg. Malgré des réactifs plus ou moins efficace à extraire des pools proches voir similaire aux pools E_x , les résultats montrent aussi (i) qu'aucun des réactifs n'est efficace pour les 3 éléments simultanément et (ii) que l'efficacité d'un réactif spécifique pour un élément varie en fonction de la teneur en éléments échangeables dans le sol (biais plus important pour les faibles concentrations). De plus, ces résultats sont à nuancer dans leur ensemble puisque le jeu de données représente des groupes d'échantillons différents. Il est alors difficile de distinguer la variabilité liée aux échantillons de celle liée à la méthode d'extraction.

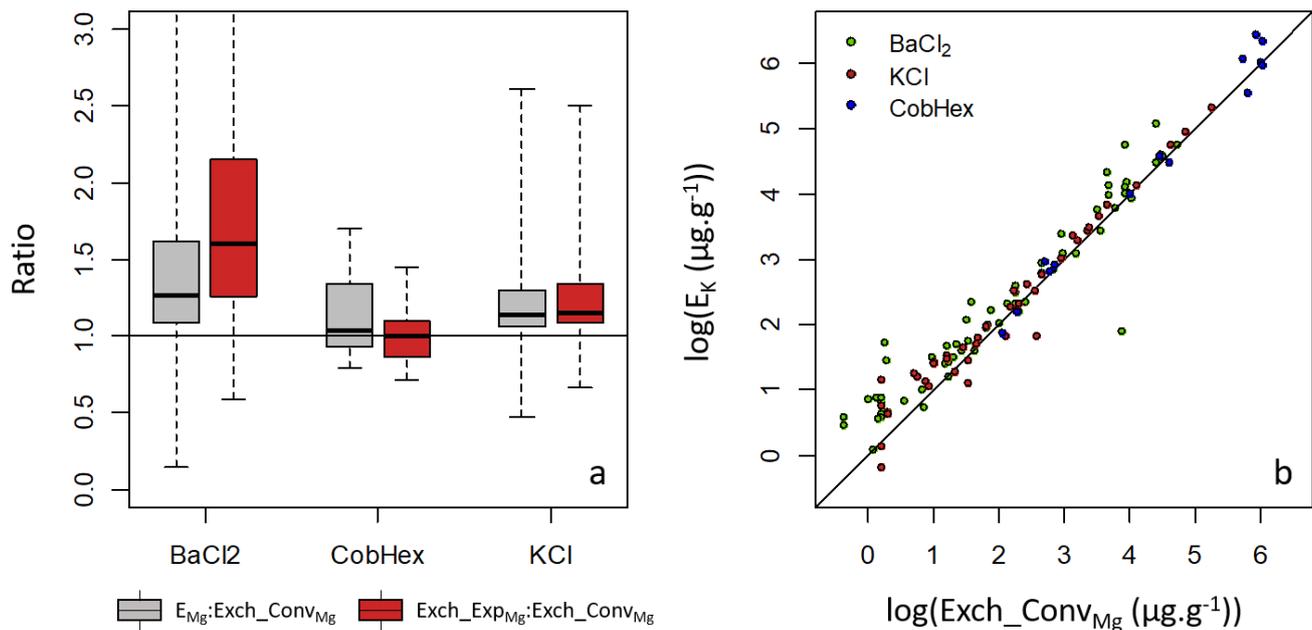


Figure VI-24. (a) Boxplot des ratios $E_{Mg}:Exch_Conv_{Mg}$, $E_{Mg}:Exch_Exp_{Mg}$ et $Exch_Exp_{Mg}:Exch_Conv_{Mg}$ en fonction des différentes méthodes d'extraction des pools échangeables conventionnels. (b) Comparaison entre les pools isotopiquement échangeables (E_{Mg}) et des pools échangeables conventionnels de Mg ($Exch_{Mg}$) en fonction des différentes méthodes d'extraction.

5.2. Utilisation du pool échangeable expérimental comme indicateur des pools isotopiquement échangeables

Dans le cadre de ce projet de thèse, un protocole d'extraction a été élaboré et appliqué dans le but premier de quantifier les pools de traceurs isotopiques dans différentes phases du sol. Ce protocole est composé entre autres d'une double extraction à l'acétate d'ammonium à 1 mol.L⁻¹, similaire aux extractions de cations échangeables réalisées conventionnellement mais avec des temps d'extractions plus longs. Les pools de Ca, Mg et K dans ces deux extractions combinés avec les pools élémentaires de Ca, Mg et K retrouvé dans la solution de traçage à l'issue de la phase d'équilibre géochimique avec la solution de traçage sont un second indicateur du pool de cations échangeables dans le sol (pool échangeable expérimental). Ce pool échangeable expérimental de cations nutritifs a généré des résultats très contrasté avec les pools échangeables mesurés avec une méthode conventionnelle. En effet, sur l'ensemble du jeu de données, les pools échangeables expérimentaux étaient supérieurs aux pools échangeables

conventionnels pour les 3 éléments (**Fig VI-25**). Pour le potassium, comme discuté précédemment, cette différence entre les pools échangeables conventionnel et expérimental s'expliquent probablement par les différentes capacités des extractants (baryum, cobalthexamine et ammonium) à extraire le potassium adsorbé sur des sites spécifiques. En effet, les pools expérimentaux et conventionnels étaient très similaires pour les échantillons dont le potassium échangeable conventionnel a été extrait avec le chlorure d'ammonium (**Fig VI- 23a**). Pour le calcium et le magnésium, ces différences pourraient s'expliquer par les différents réactifs utilisés mais l'hypothèse la plus probable pour expliquer ces différences de pools est le temps de contact plus long du protocole expérimental. Les ratios Exch_Exp : Exch_Conv étaient plus élevés pour les échantillons de sol avec les plus faibles teneurs échangeables de Ca et de Mg (**Fig VI-26**). Ces résultats soulignent que plus les teneurs échangeables d'un élément sont faibles plus leur extraction est difficile (probabilité d'échange avec le cation extractant).

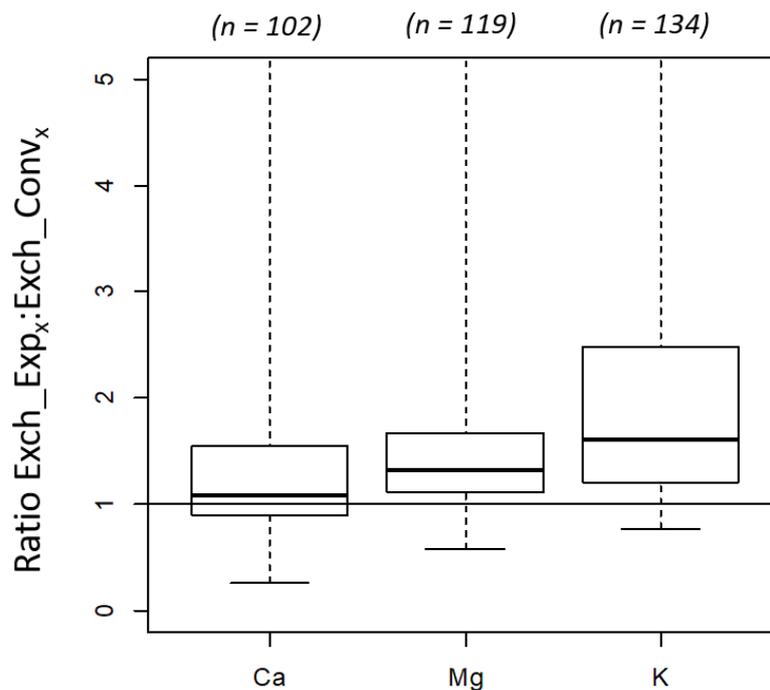


Figure VI-25. Boxplots des ratios de pools échangeables expérimentaux (Exch_Exp_x) sur les pools échangeables conventionnels (Exch_Conv_x) de Ca, Mg et K. L'échelle des ordonnées a été tronquée pour des raisons de lisibilité. Le nombre d'échantillons (n) est indiqué entre parenthèses.

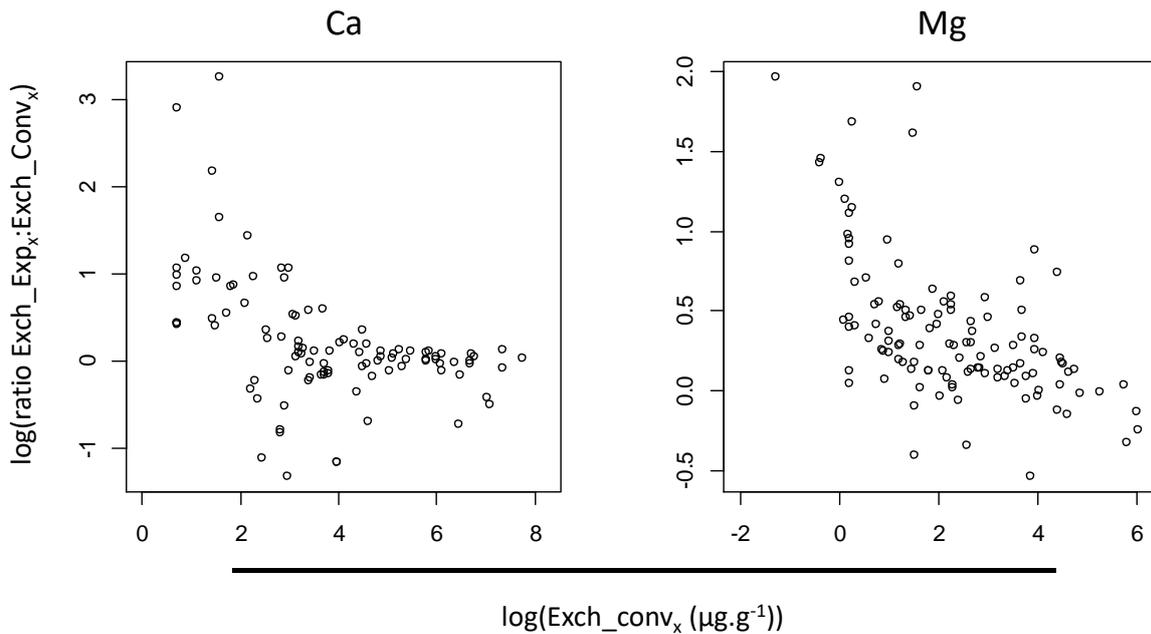


Figure VI-26. Distribution des différences relatives entre les pools échangeables expérimentaux et les pools échangeables conventionnels (ratio $\text{Exch_Exp}_x:\text{Exch_Conv}_x$) de Ca et Mg en fonction des pools échangeables conventionnels. Les abscisses et ordonnées ont subi une transformation logarithmique.

Calcium

La comparaison des pools échangeables expérimentaux de Ca ($\text{Exch_Exp}_{\text{Ca}}$) aux pools isotopiquement échangeables (E_{Ca}) sur l'ensemble du jeu de données (**Fig VI-27 et Fig VI-28**) montrent que le pool échangeable expérimental est de manière générale plus proche du pool isotopiquement échangeable que le pool conventionnel. Pour les échantillons situés dans la gamme hautes des concentrations du jeu de données ($> 0.27 \text{ cmol}_c\cdot\text{kg}^{-1}$), les pools $\text{Exch_Exp}_{\text{Ca}}$, comme les pools $\text{Exch_Conv}_{\text{Ca}}$ (**Fig VI-22b**), sont proches des valeurs de pools E_{Ca} . Cependant pour les échantillons situés dans la gamme basse des concentrations, les pools échangeables expérimentaux de Ca sont plus petits que les pools isotopiquement échangeables. Comme discuté dans le chapitre 4 ainsi que dans la 2^{ème} partie de cette synthèse, les extractions de sol avec un sel concentré ne permettent pas de quantifier l'intégralité du pool source/puits de Ca dans le sol et ces extractions de sol sous-estiment d'autant plus ces pools lorsque la disponibilité du Ca est faible dans le sol.

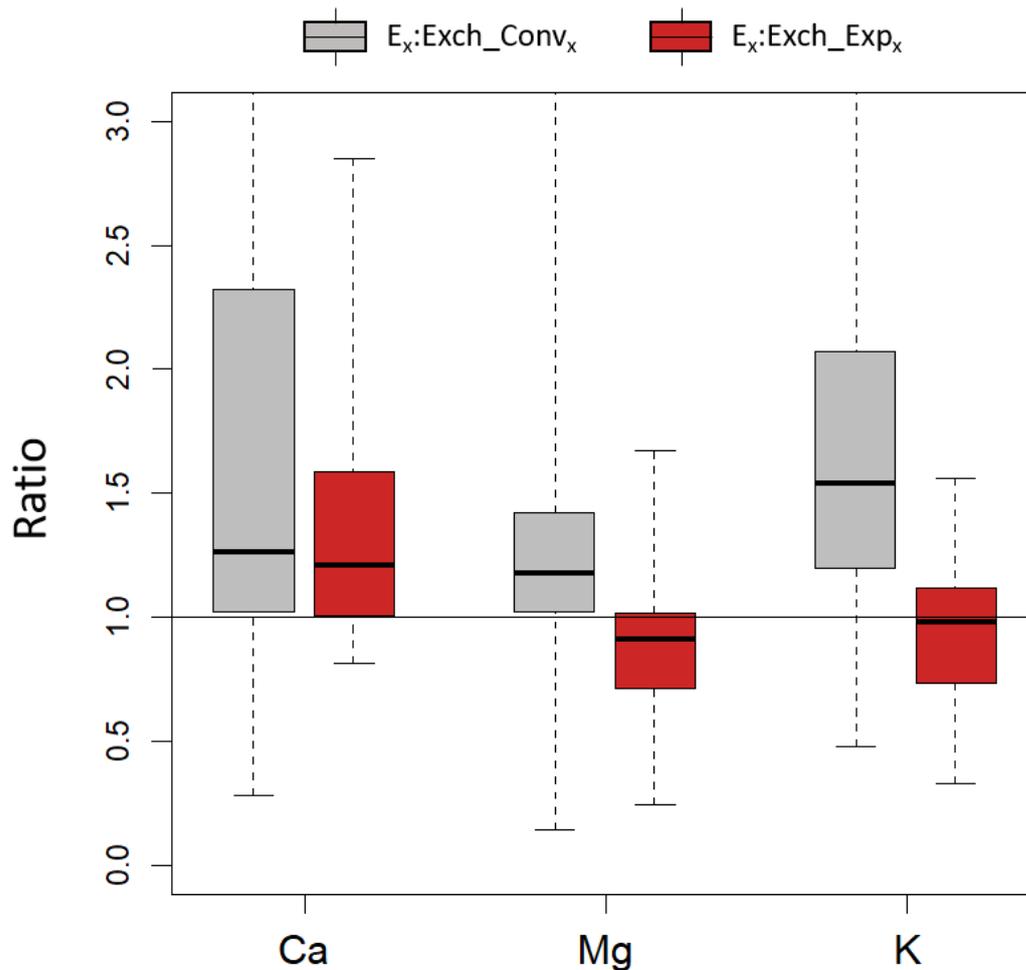


Figure VI-27. Boxplot des ratios entre les pools isotopiquement échangeables (E_x) et les pools échangeables conventionnels ($Exch_Conv_x$ - en gris) et les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$ - en rouge) de Ca, Mg et K. L'échelle des ratios a été tronquée pour des raisons de lisibilité.

Magnésium

En contraste avec le calcium, pour le magnésium, en-dessous d'un « seuil » de concentrations ($< 0.20 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$), les résultats montrent qu'une proportion des échantillons présente des pools $Exch_Exp_{Mg}$ supérieures aux pools E_{Mg} (**Fig VI-28**). De plus, seule une très faible proportion des échantillons présentait des pools E_{Mg} supérieurs aux pools $Exch_Exp_{Mg}$. Il est probable que ces résultats, un peu surprenants, s'expliquent par le fait qu'une proportion non négligeable des pools extraits par NH_4^+ n'a pas contribué à l'équilibre isotopique (**Fig VI-29**). Ces pools de Mg ne sont probablement pas réactifs avec une solution diluée (solution de traçage) mais peuvent

être extractibles avec une solution concentrée (solution d'extraction NH_4^+). Ces résultats posent la question de la disponibilité de ces pools pour le prélèvement par les plantes.

Potassium

Pour les échantillons dont les teneurs échangeables de K (Exch_Conv_K) étaient supérieures à $0.14 \text{ cmol}_c.\text{kg}^{-1}$, les pools Exch_Exp_K étaient proches mais généralement inférieures aux pools E_K (**Fig VI-28**). En revanche, pour les échantillons dont les teneurs de K échangeables étaient inférieures à $0.14 \text{ cmol}_c.\text{kg}^{-1}$, les pools Exch_Exp_K étaient plus grands que les pools E_K . Ces résultats similaires, au magnésium, s'expliquent aussi vraisemblablement par le fait qu'une proportion non négligeable des pools extraits par NH_4^+ n'a pas contribué à l'équilibre isotopique (**Fig VI-29**). Il est possible que l'ammonium, à forte concentration, soit capable d'extraire des sites d'échanges retenant du potassium qui ne soit pas disponible dans des solutions diluées. Il est également possible que ces sites soient des sites spécifiques au K, puisque le rayon d'hydratation de l'ammonium est assez faible pour lui permettre d'extraire une bonne partie du K retenu sur ces sites.

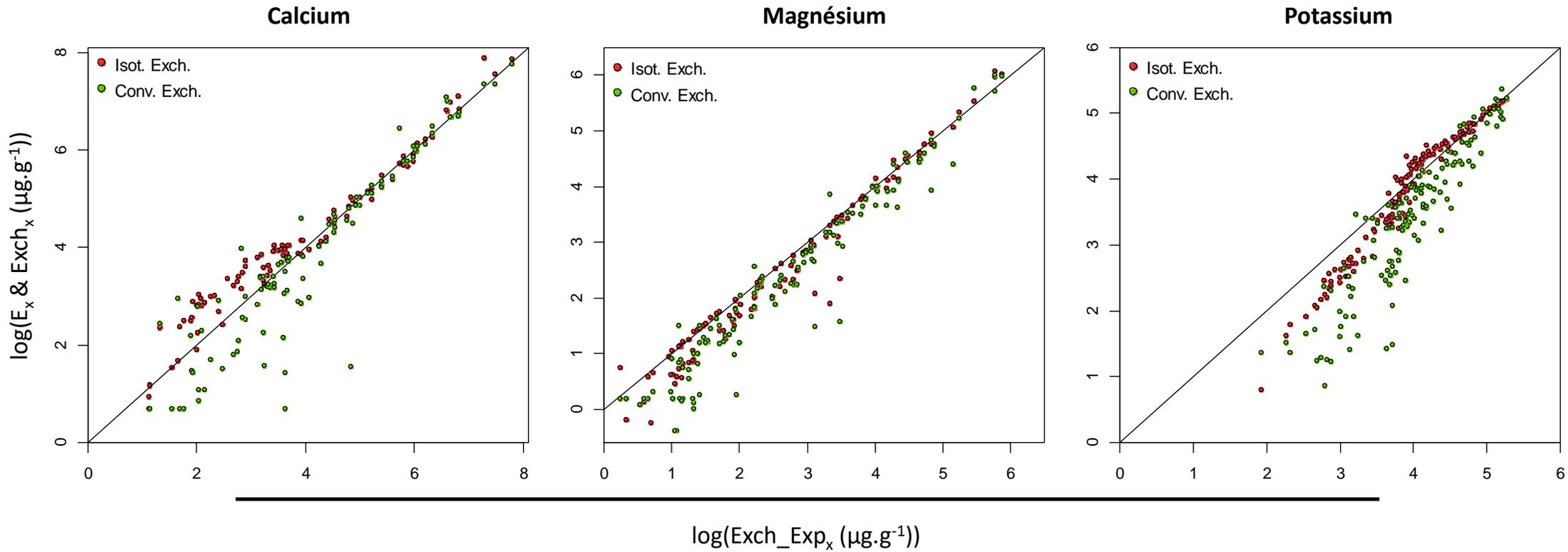


Figure VI-28. Comparaison entre les pools échangeables expérimentaux (Exch_Exp_x) de Ca, Mg et K et les pools isotopiquement échangeables (E_x en rouge) et les pools échangeables conventionnels (Exch_Conv_x en vert). Les valeurs de concentrations, exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, sont représentées sur une échelle logarithmique.

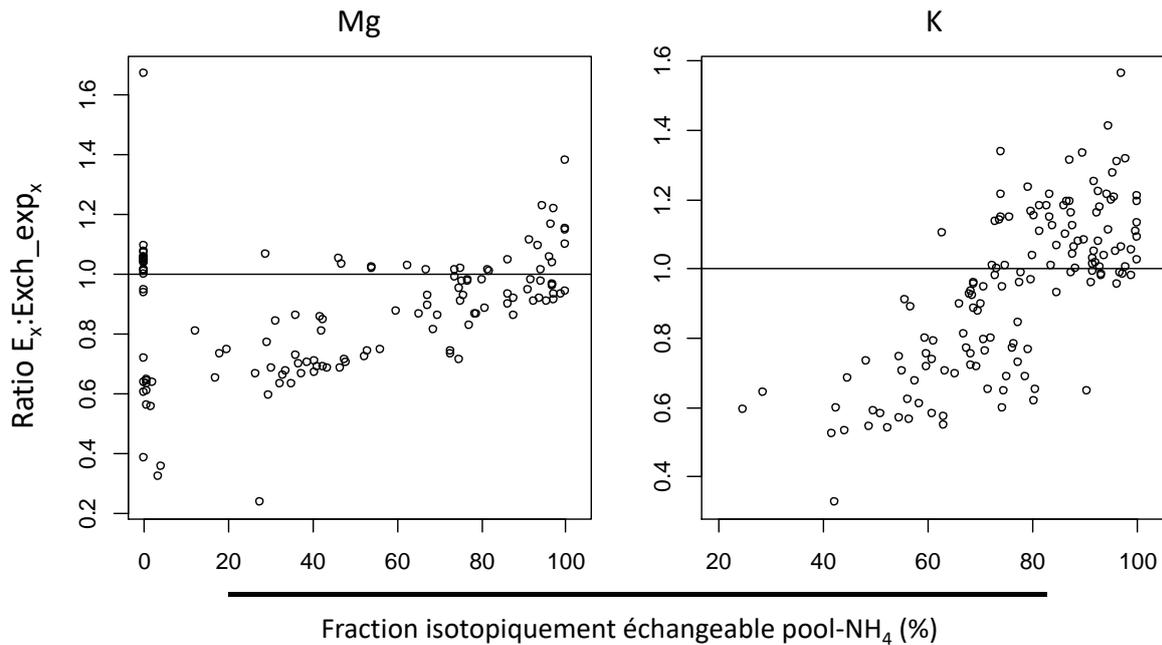


Figure VI-29. Distribution des ratios de pools isotopiquement échangeables (E_x) sur les pools échangeables expérimentaux ($Exch_Exp_x$) en fonction de la fraction isotopiquement échangeable des pools de Mg et K extraits à l'acétate d'ammonium (pool - NH_4).

5.3. Modèle prédictif des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K à partir des données conventionnelles et expérimentales.

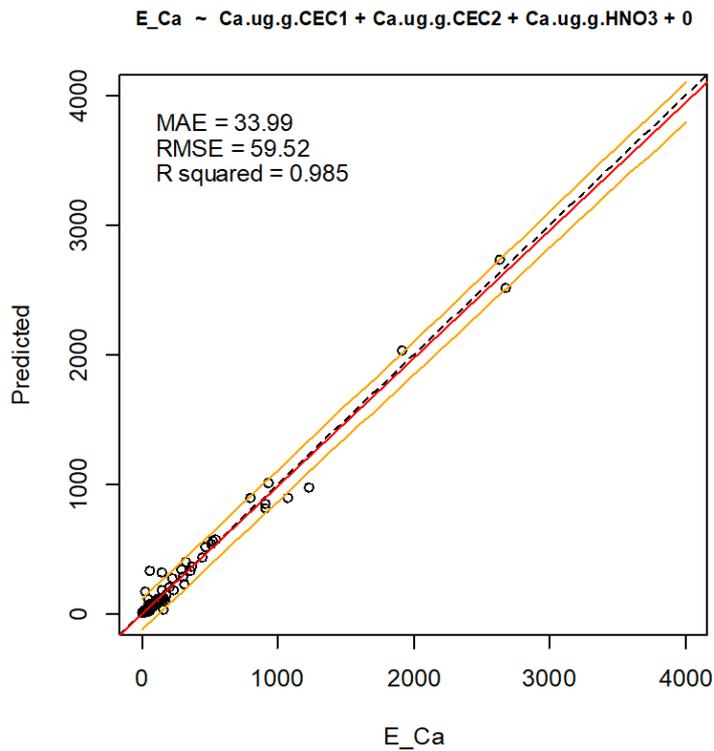
Les précédents résultats suggèrent que l'approche conventionnelle (pool échangeable conventionnel) et expérimentale (pool échangeable expérimental) ne peuvent individuellement se suppléer à une mesure de pools isotopiquement échangeables. Bien que dans certains cas, ces approches indirectes peuvent permettre de s'en approcher (gamme haute de concentrations du jeu de données), les méthodes d'extractions conventionnelles et expérimentales ne semblent pas permettre de prendre suffisamment en compte la variabilité des propriétés physico-chimiques des sols.

Le jeu de données acquis dans cette étude a permis d'investiguer différentes manière de modéliser les pools isotopiquement échangeables (approche indirect) à partir de variables plus simples et moins onéreuses à obtenir : i) des données d'analyses de sol conventionnelles et ii) des données de teneurs élémentaires obtenues au cours de l'expérience de dilution isotopique (quantités élémentaires extraites en solution et dans les différentes extractions : $NH_4\#1$, $NH_4\#2$ et HNO_3).

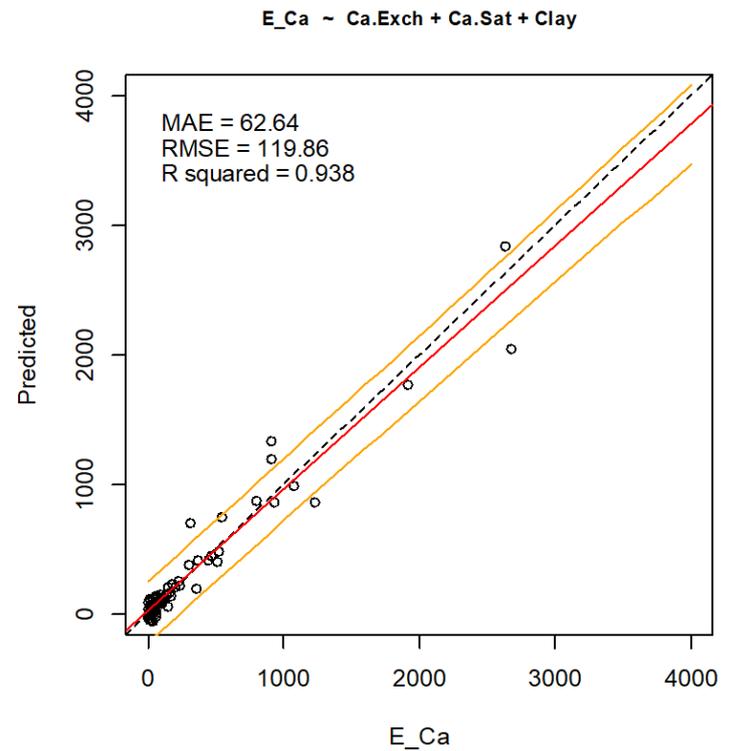
L'approche de régression linéaire multivariée a permis d'établir des modèles relativement robustes permettant de prédire les pools isotopiquement échangeables non-seulement à partir des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique (r^2 0.98 pour les trois éléments) mais également à partir des propriétés physico-chimiques conventionnelles des échantillons de sol ($r^2 = 0.94, 0.95$ et 0.98 respectivement pour le Ca, Mg et K) (**Fig VI-30-32**). Bien que les coefficients étaient relativement proches pour les deux types de modèles et pour les trois éléments, les plus performants étaient ceux construits à partir des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique. En effet l'erreur absolue moyenne et la racine carrée de la moyenne des erreurs au carré étaient plus proche de zéro pour ce deuxième type de modèles (données expérimentales) pour le Mg et K et dans une moindre mesure pour le Ca où l'erreur moyenne était légèrement supérieure, comparé au modèle construits à partir des propriétés physico-chimiques conventionnelles.

Ces résultats suggèrent qu'il serait préférable, pour obtenir des prédictions plus précises, d'utiliser les modèles construits à partir des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique. Ces variables peuvent être assez facilement obtenues en appliquant le protocole du système en agitation décrit dans cette étude en utilisant non pas une solution de traçage isotopique, mais en construisant une solution à partir de Ca, Mg et K « élémentaire » non-enrichi aux mêmes concentrations, réduisant ainsi le coût expérimental et analytique. Cependant, la prédiction des pools E_x à partir des données conventionnelles, nécessitant des analyses de sol habituellement réalisées en routine (i.e. les pools de cations échangeables Ca, Mg, K et Al, la mesure de la capacité d'échange cationique et la granulométrie), reste envisageable en acceptant une précision plus faible des prédictions.

Bien que notre jeu de données ne couvre pas l'ensemble de la variabilité des propriétés physico-chimiques des différents types de sol, ces premiers résultats ont montré que l'approche indirecte est néanmoins très prometteuse et nécessiterait d'être testée sur une plus large gamme d'échantillons de sol afin de généraliser ces modèles. Il serait alors possible d'utiliser ces modèles pour approcher les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K tout en prêtant attention de considérer les valeurs estimées comme indicatrices.



variables explicatives	Estimate	Std.Error	p-value
Ca.ug.g.CEC1	1.36071	0.04212	< 0.001
Ca.ug.g.CEC2	0.78934	0.13992	< 0.001
Ca.ug.g.HNO3	0.82333	0.06092	< 0.001



variables explicatives	Estimate	Std.Error	p-value
Intercept	130.637	36.194	< 0.001
Ca.Exch	304.280	16.714	< 0.001
Ca.Sat	-510.673	125.604	< 0.001
Clay	-7.427	1.953	< 0.001

Figure VI-30. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Ca (E_{Ca}) construits à partir des données d'analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.

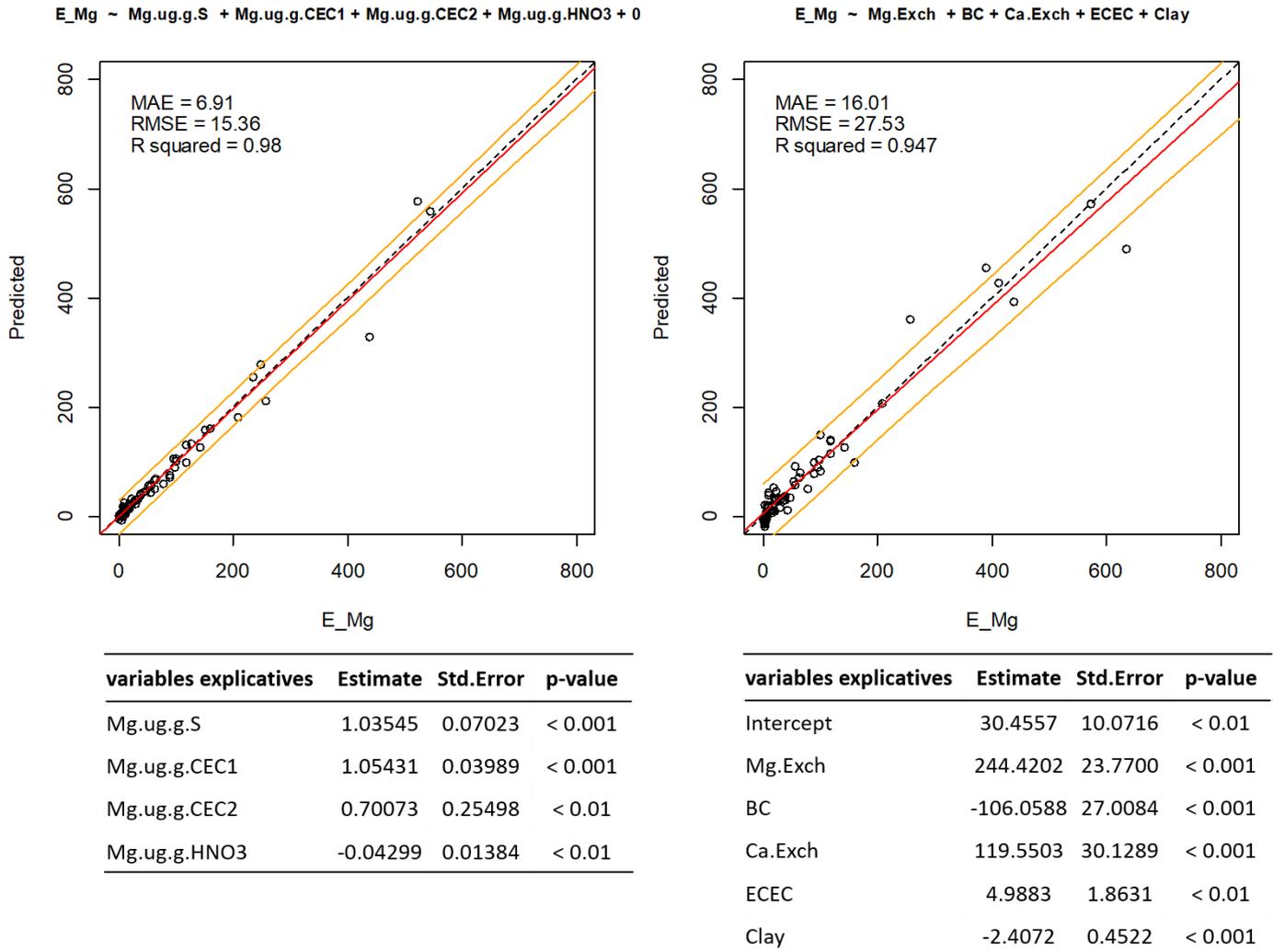
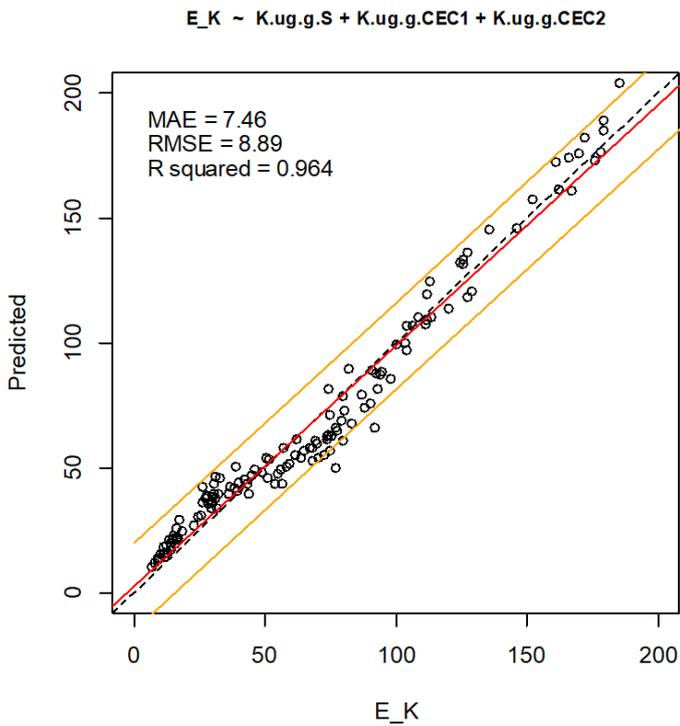
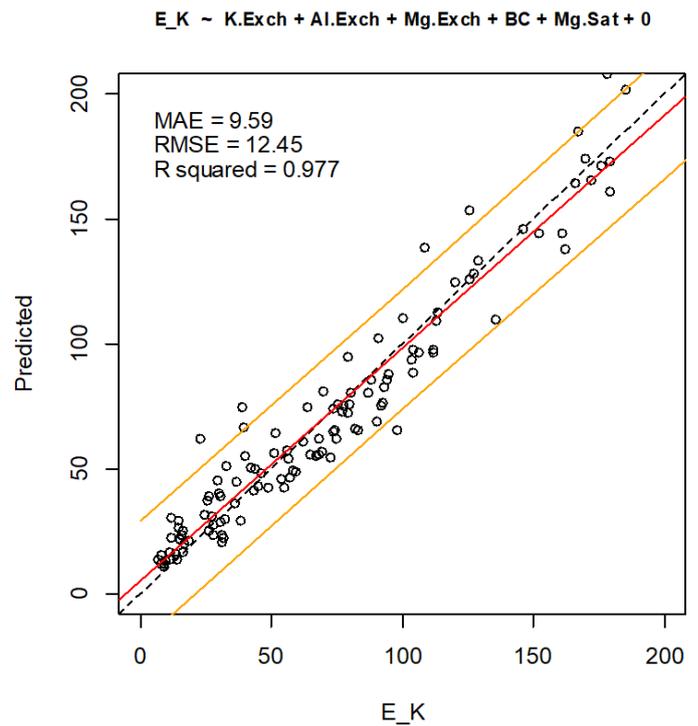


Figure VI-31. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de Mg (E_{Mg}) construits à partir des données d’analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.



variables explicatives	Estimate	Std.Error	p-value
Intercept	-3.34438	1.42268	< 0.05
Mg.ug.g.S	1.14437	0.05476	< 0.001
Mg.ug.g.CEC1	1.04886	0.03982	< 0.001
Mg.ug.g.CEC2	0.79699	0.11363	< 0.001



variables explicatives	Estimate	Std.Error	p-value
K.Exch	260.7737	17.7698	< 0.001
Al.Exch	7.7052	0.6248	< 0.001
Mg.Exch	-29.6230	4.0953	< 0.001
BC	4.0839	1.1455	< 0.001
Mg.Sat	351.3413	44.5081	< 0.001

Figure VI-32. Modèles prédictifs des pools isotopiquement échangeables de K (E_K) construits à partir des données d'analyses de sol conventionnels (modèle à droite) et des données expérimentales de dilution isotopique (modèle à gauche). Les paramètres de chaque variable explicative sont donnés dans les tableaux en bas de chaque figure. Les coefficients de corrélation, les erreurs moyennes (ME), erreurs absolues moyennes (MAE) et erreurs quadratiques moyennes (RMSE) sont données sur chaque figure.

6. Les limites de l'approche par dilution isotopique

L'ensemble des résultats de ce projet de thèse montre la pertinence et la puissance de l'approche par dilution isotopique pour quantifier les pools source/puits de cations nutritifs dans le sol (pools disponibles pour le prélèvement par la plante et géochimiquement disponibles) et tracer les différentes phases du sol qui jouent le rôle de support pour ce pool source/puits. Cependant, cette approche, de par son principe et les prérequis expérimentaux nécessaires à son bon déroulement, présente également un certain nombre de limites qui sont discutées ici.

6.1. Marquage isotopique des différentes phases du sol

Comme discuté précédemment pour le Mg, le choix de la quantité de traceur à ajouter dans le système solution/sol peut fortement influencer la quantification du pool isotopiquement échangeable et le traçage des phases contribuant à ce pool. Un juste milieu entre enrichissement et quantité de matériel isotopiquement enrichi apporté doit être trouvé. La difficulté majeure étant que le choix de l'enrichissement isotopique et de la quantité de matériel enrichi à apporter dépend du pool isotopiquement échangeable et des pools élémentaires de cations dans chacune des extractions. Si l'enrichissement et/ou la quantité de traceur isotopique apportée sont trop faibles par rapport aux pools élémentaires présents dans le sol, la dilution isotopique sera trop grande et les rapports isotopiques mesurés se rapprocheront des rapports isotopiques « naturels » et passeront éventuellement sous la limite de détection analytique de l'ICP-MS. Avoir recours à des spectromètres de masse plus précis pourrait pallier à ce problème. Cependant, si les rapports isotopiques mesurés dans les échantillons isotopiquement marqués sont proches des rapports isotopiques naturels, il deviendrait nécessaire de mesurer les rapports isotopiques des échantillons de sol dans des systèmes « témoins » (sans apport de traceur isotopique) afin de pouvoir éliminer la part de variabilité imputable à la variabilité naturelle des rapports isotopiques.

A contrario, si la dilution isotopique et le traçage isotopique des phases du sol requiert l'apport d'une quantité importante de traceur, cela pourrait biaiser les résultats obtenus. Dans des essais de dilution isotopique préliminaires à ce projet de thèse, il a été montré que de faibles variations de la concentration élémentaire en Ca, Mg et K n'influençaient pas la quantification du pool isotopiquement échangeable (van der Heijden et al. 2018), tant que ces concentrations restaient proches des conditions d'équilibre géochimique du sol. Cependant, si les concentrations

élémentaires en traceurs isotopiques s'éloignent fortement des conditions d'équilibre géochimique du sol, cela peut entraîner un gradient de diffusion et donc un flux élémentaire net de Ca, Mg et/ou K de la solution vers le sol, perturbant ainsi la mesure du pool isotopiquement échangeable et de la contribution relative des différents pools du sol à la dilution isotopique (van der Heijden et al. 2017, 2018). L'apport d'une quantité trop importante de matériel isotopique très enrichi peut résulter en une dilution isotopique trop faible. Lorsque l'enrichissement isotopique des échantillons est très élevé (enrichissement isotopique > 95 atom%) cela peut engendrer de fortes incertitudes analytiques lors de la mesure des rapports isotopiques, surtout pour les systèmes isotopiques du Ca et du K pour lesquels il existe une interférence isobarique de l'argon sur les isotopes ^{40}Ca et ^{39}K (**Fig VI-33**).

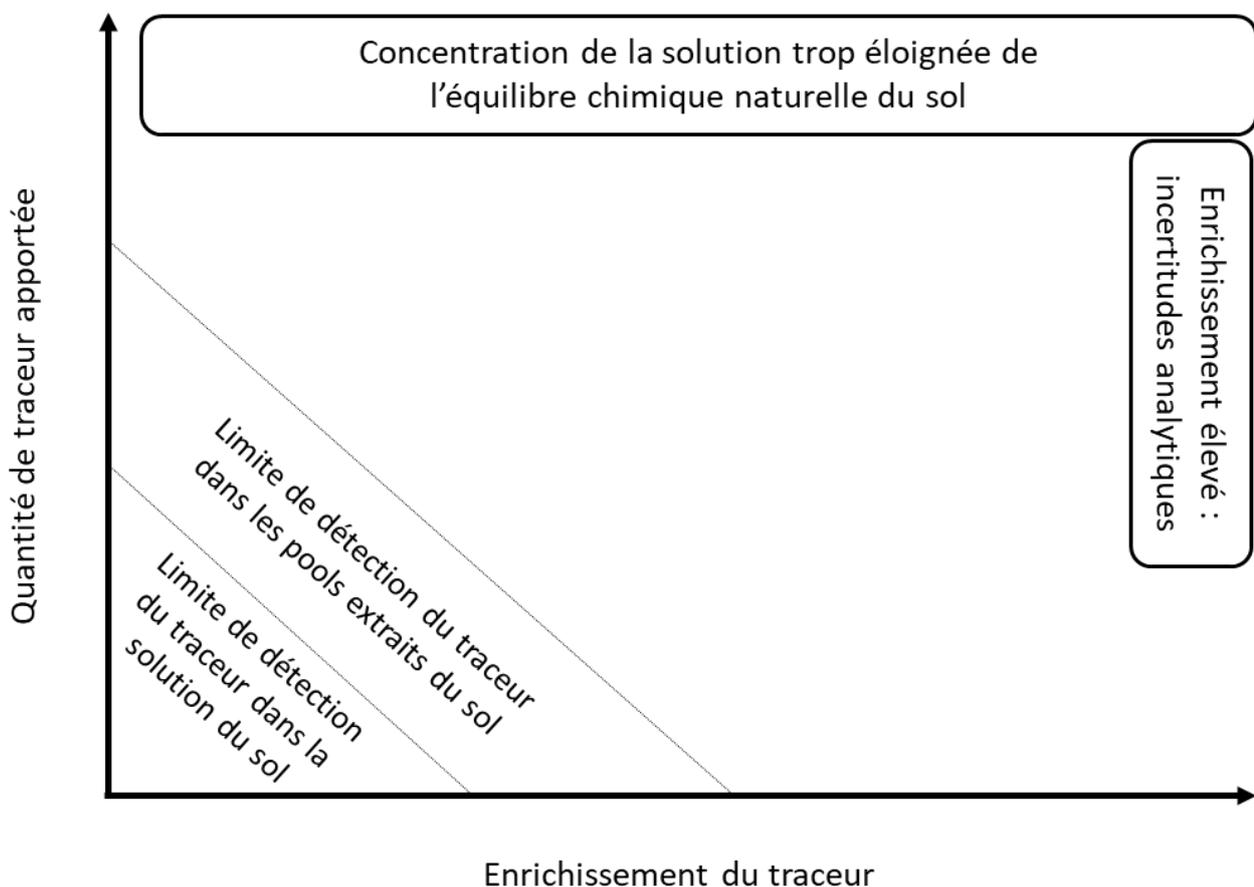


Figure VI-33. Représentation schématique de la précision analytique en fonction de l'enrichissement.

6.2. Le choix des réactifs pour extraire les différentes phases du sol

Bien que de nombreux réactifs et méthodes différents existent et permettent d'extraire les différentes phases du sol de manière plus ou moins sélective, toutes ces méthodes ne sont pas facilement adaptables à l'approche isotopique. En effet, ces méthodes d'extractions utilisent des réactifs concentrés qui ne peuvent être analysés directement par spectrométrie de masse : une étape de purification en séparant l'analyte d'intérêt de la matrice du réactif est alors nécessaire. Dépendant du réactif d'extraction utilisé et de sa concentration, cette étape supplémentaire peut s'avérer très complexe et rajoute un risque non négligeable de contamination des échantillons au cours de leur traitement. Le nombre réduit de méthodes d'extractions du sol facilement compatible avec les analyses isotopiques limite les possibilités d'identifier les différentes phases du sol contribuant aux pools isotopiquement échangeables.

6.3. Disponibilité des cations adsorbés sur des sites d'échange spécifique

La mesure quantitative du pool isotopiquement échangeable repose sur la dilution isotopique du traceur enrichi dans la solution. Les cations de la solution de traçage s'échangent avec les cations chimiquement réactifs présents dans les phases solides du sol. Parmi ces pools de cations réactifs peuvent se trouver des sites d'échange spécifique : des sites d'adsorption de cation spécifique à un élément chimique dont la conformation géochimique ne permet pas l'adsorption de cations d'autres éléments chimiques.

Selon le principe de l'équilibre isotopique sur laquelle se base l'approche par dilution isotopique, il est très probable que les cations adsorbés sur des sites d'échange spécifiques s'équilibrent isotopiquement avec la solution de traçage et donc que ces pools de cations soient inclus dans la mesure du pool isotopiquement échangeable. Il n'est cependant pas évident que les cations adsorbés sur des sites d'échange spécifique soient directement disponibles à la plante ou disponibles pour contribuer à l'équilibre entre la solution et le sol. Pour le potassium par exemple, les études s'intéressant au rôle du K « fixé » sur des sites d'échange spécifique ont montré que, bien que les plantes accèdent à cette ressource, celle-ci n'est rendue disponible à la plante qu'après une altération minérale d'origine biotique ou abiotique (Fine et al. 1941; Moritsuka et al. 2004; Calvaruso et al. 2006).

Bien que les sites d'échange spécifiques soient plus connus pour le potassium, ce type de site adsorption cationique est aussi envisageable pour les autres cations. Les cations, tels que le calcium, qui ont une grande affinité pour les sites organiques ou pour former des complexes avec des composés organiques pourraient être adsorbés sur des sites spécifiques, mais rester isotopiquement échangeable. La libération de ces ressources non-directement disponibles à la plante pourrait nécessiter la protonation des groupements fonctionnels adsorbant ou complexant les cations ou la minéralisation des composés organiques.

6.4. Influence de l'équilibre chimique

L'étape de mise en équilibre chimique et isotopique du sol avec la solution de traçage est une étape très importante pour la mesure des pools isotopiquement échangeables. Les résultats du chapitre 3 ont montré l'importance du choix du dispositif expérimental pour établir l'équilibre chimique et isotopique. Le choix de la composition chimique de la solution est toute aussi important. Dans la théorie de la dilution isotopique, le traceur isotopique est introduit dans un système sol-solution qui est déjà à l'état d'équilibre et la quantité de traceur ajoutée est assez faible pour ne pas perturber l'équilibre existant. Il est cependant complexe d'établir une solution de traçage dont la composition chimique correspond à l'équilibre chimique. Ainsi, au cours de la cinétique d'équilibre isotopique des flux nets de la phase solide vers la solution ou inversement peuvent se produire.

Bien que ces flux nets ne perturbent pas la mesure du pool isotopiquement échangeable, ils rendent difficile de quantifier la contribution des différents pools de cations nutritifs extraits du sol à ce pool isotopiquement échangeable. En effet, dans la vaste majorité des échantillons de sol étudiés dans ce projet de thèse, un flux net de Ca, Mg et K du sol vers la solution a été observé. Ce flux a pour origine le pool isotopiquement échangeable du sol mais, à partir des données expérimentales recueillies dans cette étude, il n'a pas été possible de conclure sur l'origine de ce flux au sein du pool isotopiquement échangeable (fraction extractible à l'acétate d'ammonium ou fraction extractible à HNO_3). Ainsi, le taux de recouvrement des traceurs isotopiques dans les différents pools extraits du sol a permis de quantifier leur contribution relative au pool isotopiquement échangeable à la fin de l'expérience mais pas de quantifier leur contribution dans l'échantillon de sol initial.

6.5. Effets du prétraitement des échantillons de sol

Conventionnellement, les échantillons de sol sont séchés (30°C), avant la conduction d'analyses de sol. Ce prétraitement analytique est susceptible de créer des conditions favorables à la fixation du potassium. Des études conduites sur des smectites (Montmorillonite, K-Beidellite) ont rapporté que ces argiles perdaient leur propriétés gonflantes sous l'influence des cycles d'humectation-dessiccation (Mamy and Gaultier 1979; Eberl et al. 1987; Mikloš and Čičel 1993; Zaidi et al. 2019). Selon ces études, la rétention du K (pouvant être irréversible) serait due à la transformation structurelle de ces minéraux argileux en une structure proche de l'illite (argile 2:1). Bien que ces études aient été conduites en laboratoire dans des conditions « extrêmes » (100 cycles d'humectation-dessiccation à 60°C) et sur des argiles pures, l'effet du séchage du sol sur la mesure des pools disponibles de K (par l'approche isotopique et conventionnelle) pose question. Il est possible que le séchage des échantillons puisse altérer plus généralement la géochimie du sol et des interrogations similaires peuvent se poser pour la mesure des pools disponibles du Ca et Mg.

Enfin, l'archivage des échantillons sur le long terme pose également question sur d'éventuelles modifications de leurs propriétés physico-chimiques. Les données de pools isotopiquement échangeables acquises durant cette thèse ont été réalisées sur des échantillons de sols archivés depuis parfois 20 ans et ces données ont été comparées aux analyses de sol conventionnelles réalisées peu de temps après leur prélèvement. Des éventuelles modifications des propriétés physico-chimiques des sols durant leur stockage pourraient avoir eu une influence sur la comparaison des données isotopiques et conventionnelles. Il serait alors intéressant de réaliser de nouvelles mesures de pools échangeables conventionnels pour apprécier un éventuel effet « archivage ».

Références

- André JP, Pijarowski L (1977) Cation exchange properties of Sphagnumpeat: Exchange between two cations and protons. *J Soil Sci* 28:573–584. doi: 10.1111/j.1365-2389.1977.tb02265.x
- Baes A., Bloom P. (1988) Exchange of alkaline earth cations in soil organic matter. *Soil Sci* 146:6–14.
- Calvaruso C, Turpault MP, Frey-klett P, et al (2006) Root-Associated Bacteria Contribute to Mineral Weathering and to Mineral Nutrition in Trees : a Budgeting Analysis. *Appl Environ Microbiol* 72:1258–1266. doi: 10.1128/AEM.72.2.1258
- Clarholm M, Skjellberg U, Rosling A (2015) Organic acid induced release of nutrients from metal-stabilized soil organic matter - The unbutton model. *Soil Biol. Biochem.* 84:168–176.
- Collignon C, Ranger J, Turpault MP (2012) Seasonal dynamics of Al- and Fe-bearing secondary minerals in an acid forest soil: influence of Norway spruce roots (*Picea abies* (L.) Karst.). *Eur J Soil Sci* 63:592–602. doi: 10.1111/j.1365-2389.2012.01470.x
- Delfosse T, Elsass F, Delvaux B (2005) Direct evidence of basic aluminium sulphate minerals in an S-impacted Andosol. *Eur J Soil Sci* 56:281–286. doi: 10.1111/j.1365-2389.2004.00675.x
- DeSutter TM, Pierzynski GM, Baker LR (2006) Flow-Through and Batch Methods for Determining Calcium-Magnesium and Magnesium-Calcium Selectivity. *Soil Sci Soc Am J* 70:550–554. doi: 10.2136/sssaj2005.0065n
- Eberl DD, Środoń J, Northrop HR (1987) Potassium Fixation in Smectite by Wetting and Drying. pp 296–326
- EEA (2020) Air quality in Europe.
- Federer CA, Hornbeck JW, Tritton LM, et al (1989) Long-term depletion of calcium and other nutrients in eastern US forests. *Environ Manage* 13:593–601. doi: 10.1007/BF01874965
- Fine LO, Bailey TA, Truog E (1941) Availability of Fixed Potassium as Influenced by Freezing and Thawing. *Soil Sci Soc Am J* 5:183–186. doi: 10.2136/sssaj1941.036159950005000c0031x
- Gaston LA, Selim HM, Walthall PM (1993) Predicting Cation Transport in Smectitic Soils. *Soil Sci Soc Am J* 57:307–310. doi: 10.2136/sssaj1993.03615995005700020003x
- Hall SJ, Huang W (2017) Iron reduction: a mechanism for dynamic cycling of occluded cations in tropical forest soils? *Biogeochemistry* 136:91–102. doi: 10.1007/s10533-017-0383-0
- Hedin LO, Likens GE (1996) Atmospheric Dust and Acid Rain. *Sci Am* 275:88–92. doi: 10.1038/scientificamerican1296-88
- Helling CS, Chesters G, Corey RB (1964) Contribution of Organic Matter and Clay to Soil Cation-Exchange Capacity as Affected by the pH of the Saturating Solution. *Soil Sci Soc Am J* 28:517–520. doi: 10.2136/sssaj1964.03615995002800040020x
- Johnson J, Graf Pannatier E, Carnicelli S, et al (2018) The response of soil solution chemistry in European forests to decreasing acid deposition. *Glob Chang Biol* 24:3603–3619. doi: 10.1111/gcb.14156

Jonard M, Legout A, Nicolas M, et al (2012) Deterioration of Norway spruce vitality despite a sharp decline in acid deposition: A long-term integrated perspective. *Glob Chang Biol* 18:711–725. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02550.x

Jonard M, Nicolas M, Coomes DA, et al (2017) Forest soils in France are sequestering substantial amounts of carbon. *Sci Total Environ* 574:616–628. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.028

Kinniburgh DG, Jackson ML, Syers JK (1976) Adsorption of Alkaline Earth, Transition, and Heavy Metal Cations by Hydrous Oxide Gels of Iron and Aluminum. *Soil Sci Soc Am J* 40:796–799. doi: 10.2136/sssaj1976.03615995004000050047x

Kolodny L, Robbins W. (1940) Availability of fixed potassium to plants. *Soil Sci* 49:303–313.

Kosmulski M (2009) Compilation of PZC and IEP of sparingly soluble metal oxides and hydroxides from literature. *Adv Colloid Interface Sci* 152:14–25. doi: 10.1016/j.cis.2009.08.003

Mamy J, Gaultier J (1979) Etude comparee de l'evolution des montmorillonites biioniques K-Ca de Camp-Berteaux et du Wyoming sous l'effet des cycles d'humectation et de dessiccation. *Clay Miner* 14:181–192. doi: doi:10.1180/claymin.1979.014.3.04

Mikloš D, Čičel B (1993) Development of Interstratification in K- and NH₄-Smectite from Jelšovský Potok (Slovakia) Treated by Wetting and Drying. *Clay Miner* 28:435–443. doi: doi:10.1180/claymin.1993.028.3.07

Moritsuka N, Yanai J, Kosaki T (2004) Possible processes releasing nonexchangeable potassium from the rhizosphere of maize. *Plant Soil* 258:261–268. doi: 10.1023/B:PLSO.0000016556.79278.7f

Myrvang MB, Gjengedal E, Heim M, et al (2016) Geochemistry of barium in soils supplied with carbonatite rock powder and barium uptake to plants. *Appl Geochemistry* 75:1–8. doi: 10.1016/j.apgeochem.2016.10.013

Nezat CA, Blum JD, Yanai RD, Hamburg SP (2007) A sequential extraction to determine the distribution of apatite in granitoid soil mineral pools with application to weathering at the Hubbard Brook Experimental Forest, NH, USA. *Appl geochemistry* 22:2406–2421.

Ponette Q (1997) Downward movement of dolomite, kieserite or a mixture of CaCO₃ and kieserite through the upper layers of an acid forest soil. *Water Air Soil Pollut* 95:353–379. doi: 10.1023/A:1026426132174

Reuss JO, Johnson DW (1986) *Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters*. Springer New York, New York, NY

Salmon RC (1964) Cation exchange reactions. *J Soil Sci* 15:273–283. doi: 10.1111/j.1365-2389.1964.tb02225.x

Sentenac H, Grignon C (1981) A Model for Predicting Ionic Equilibrium Concentrations in Cell Walls. *Plant Physiol* 68:415–419.

Simpson AJ, Kingery WL, Hayes MH, et al (2002) Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89:84–88. doi: 10.1007/s00114-001-0293-8

Smeck NE, Saif HT, Bigham JM (1994) Formation of a Transient Magnesium-Aluminum Double Hydroxide in Soils of Southeastern Ohio. *Soil Sci Soc Am J* 58:470–476. doi: 10.2136/sssaj1994.03615995005800020032x

Sowers TD, Stuckey JW, Sparks DL (2018) The synergistic effect of calcium on organic carbon sequestration to ferrihydrite. *Geochem Trans* 19:4. doi: 10.1186/s12932-018-0049-4

Sparks DL (1987) Potassium Dynamics in Soils. In: Stewart BA (ed) *Advances in Soil Science*, Advance in. Springer, New York, NY, pp 1–63

Sposito G, Holtzclaw KM, Jouany C, Charlet L (1983) Cation Selectivity in Sodium-Calcium, Sodium-Magnesium, and Calcium-Magnesium Exchange on Wyoming Bentonite at 298 K. *Soil Sci Soc Am J* 47:917–921. doi: 10.2136/sssaj1983.03615995004700050015x

Steiner F, Lana M do C (2018) Contribution of non-exchangeable K in soils from Southern Brazil under potassium fertilization and successive cropping. *Rev Cienc Agron* 49:547–557. doi: 10.5935/1806-6690.20180062

Sticher H (1972) Potassium in allophane and in zeolites. In: *Potassium in Soil: Proceedings of the 9th Colloquium of the International Potash Institute*. International Potash Institute: Basel, Switzerland,

Thompson M., Zhang H, Kazemi M, Sandor J. (1989) Contribution of organic matter to cation exchange capacity and specific surface area fractionated soil materials. *Soil Sci* 148:67–87.

Turpault M-P, Bonaud P, Fighter J, et al (1996) Distribution of cation exchange capacity between organic matter and mineral fractions in acid forest soils (Vosges mountains, France). *Eur J Soil Sci* 47:545–556. doi: 10.1111/j.1365-2389.1996.tb01854.x

van der Heijden G, Bel J, Craig CA, et al (2018) Measuring Plant-Available Mg, Ca, and K Pools in the Soil - An Isotopic Dilution Assay. *ACS Earth Sp Chem* 2:292–313. doi: 10.1021/acsearthspacechem.7b00150

Chapitre VII

Conclusion Générale

L'ensemble de ces travaux avaient pour but d'améliorer notre compréhension sur les pools biodisponibles de cations nutritifs contribuant aux réactions d'équilibre géochimiques avec la solution du sol. Les résultats obtenus dans ce projet de thèse sont synthétisés dans la **figure VII-1** et les réponses aux objectifs, détaillés ci-dessous.

Quelle approche expérimentale est la plus adéquate pour quantifier les pools isotopiquement échangeables ? (Objectif 1)

- (i) Le choix du dispositif expérimental pour établir l'équilibre géochimique et isotopique peut influencer les résultats de l'approche par dilution isotopique : quantification du pool isotopiquement échangeable et traçage des phases du sol qui contribuent au pool isotopiquement échangeable. Bien que les différences entre les pools isotopiquement échangeables mesurés par le dispositif en agitation et en percolation étaient relativement faibles, elles étaient significatives.
- Les pools isotopiquement échangeables mesurés par l'approche par agitation étaient supérieurs aux pools mesurés par l'approche par percolation.
- (ii) L'ensemble des résultats ne permettent pas de conclure de manière définitive sur la validité des deux méthodes testées dans le cadre de ces travaux de thèse mais un ensemble de résultats suggèrent néanmoins que le dispositif en agitation semble être la méthode la plus adéquate pour la quantification des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K et du traçage des phases porteuses du sol.
- Le dispositif par percolation d'une colonne de sol, bien que présentant l'avantage de se rapprocher de conditions plus proches des conditions *in situ* (rapport solide:liquide proche de la capacité au champ), a montré que l'équilibre chimique n'a pas systématiquement été atteint. Il est aussi probable que cet équilibre chimique entre solution et phase solide ne soit pas homogène dans la colonne de sol.
 - Le dispositif en agitation est quant à lui plus de facile à mettre en œuvre (temps d'équilibre plus court, moins de risques de contamination, équilibre chimique plus homogène et plus répétable pour des temps d'équilibre inférieurs à 48h).

Quantification des pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K et caractérisation des phases porteuses de ces pools (Objectif 2 et 3)

L'ensemble des résultats de ces travaux de thèse montre la pertinence et la puissance de l'approche isotopique pour tracer et quantifier les pools de cations nutritifs dans le sol qui contribuent aux équilibres géochimiques.

(i) Les pools source/puits du sol contribuant aux réactions d'équilibre avec la solution du sol ne se limitent pas à ceux quantifiés par les méthodes conventionnelles d'analyse de sol (extraction par une solution saline concentrée). Ces pools additionnels pouvaient dans de nombreux cas, représenter plus de 50% du pool échangeable conventionnel.

- **Les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K étaient supérieurs aux pools échangeables conventionnels** pour une large proportion d'échantillons de sol investigués et couvrant une grande variabilité de type de sols forestiers.
- Pour une minorité d'échantillons de sol, les pools isotopiquement échangeables étaient inférieurs aux pools échangeables conventionnels. Pour ces échantillons, cette observation s'est expliquée par une faible proportion des pools de Ca, Mg et K extraits à l'ammonium contribuant à l'équilibre chimique avec la solution. Cependant, pour ces échantillons, des traceurs isotopiques ont été retrouvés dans les pools de Ca, Mg et K extraits à l'acide nitrique ce qui montre que pour l'ensemble de échantillons de sol, des pools autres que les pools échangeables conventionnels contribuent à la biodisponibilité.

En plus de quantifier le pool isotopiquement échangeable, l'approche par dilution isotopique permet aussi de tracer les différents pools de Ca, Mg et K dans le sol qui contribuent au pool isotopiquement échangeable. La combinaison de multiples techniques d'extraction de sol permet de caractériser ces phases. L'ensemble des résultats des travaux de cette thèse permettent de montrer :

(ii) Que les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K étaient principalement constitués des **phases échangeables conventionnelles de Ca, Mg et K**. Cependant, **des phases du sol extractibles par un acide fort (HNO₃), contribuent également aux pools**

isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K. Ce constat a été observé aussi bien pour les échantillons dont les pools isotopiquement échangeables étaient supérieurs, qu'inférieurs aux pools échangeables conventionnels.

- L'approche par dilution isotopique permet aussi de quantifier la proportion d'un pool extrait chimiquement qui est en équilibre avec la solution du sol.
- Pour la majorité des échantillons de sol, la proportion des pools de Mg, Ca et K extraits à l'ammonium contribuant à l'équilibre géochimique avec la solution était inférieure à 100%. Cette observation soulève de nouvelles questions :
 - La proportion des pools de Mg, Ca et K extraits à l'ammonium qui ne contribue pas à l'équilibre géochimique avec la solution est-elle biodisponible ?
 - Est-ce que l'approche isotopique sous-estime l'ensemble des pools biodisponibles ?

(iii) L'identification de ces phases du sol, non-extractible par les méthodes conventionnelles et contribuant aux équilibres géochimiques avec la solution du sol étaient de différentes nature selon les éléments :

- Pour le calcium, les phases autres qu'échangeables semblent être associées à des **minéraux secondaires amorphes et mal cristallisés en interactions avec les matières organiques du sol.**
- Pour le potassium, les phases autres qu'échangeables semblent être associées aux **sites spécifiques de K des phyllosilicates ainsi qu'à des phases aluminosilicatés amorphes.**
- Pour le magnésium, nos résultats n'ont pas permis d'identifier les phases porteuses des pools isotopiquement échangeables. Les quantités de traceurs isotopiques de Mg, n'ont pas été apportées en quantités suffisantes pour marquer efficacement les phases du sol autres qu'échangeables.

Nos résultats suggèrent que ces pools source/puits, non-comptabilisés par les méthodes conventionnelles, contribuent directement aux réactions d'équilibre avec la solution du sol et sont susceptibles de jouer un rôle important dans les cycles biogéochimiques de ces éléments.

Apport des pools isotopiquement échangeables à la compréhension de l'évolution de la fertilité chimique des sols forestiers (Objectif 4)

- (i) Les 11 sites de suivi RENECOFOR montrent des évolutions contrastées de la fertilité chimique des sols à travers les analyses de sol conventionnelles : dégradation de la fertilité, peu ou faibles évolution, amélioration de la fertilité chimique.
- (ii) Globalement, les mêmes tendances ont été observées pour les indicateurs conventionnels et isotopiques mais la comparaison des deux approches a permis de mieux caractériser quelles phases porteuses de Ca, Mg et K ont joué un rôle dans la tendance observée.
- (iii) Les évolutions mesurées des pools isotopiquement échangeables montrent que ces pools jouent un rôle dynamique de source et de puit de Ca, Mg et K. Pour les sites où les bilans de masse de Mg, Ca et/ou K étaient positifs, les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K non-extractible à l'ammonium ont aussi augmentés montrant que ces pools peuvent stocker des cations nutritifs lorsque leur disponibilité augmente. Inversement pour les sites où les bilans de masse de Ca, Mg et/ou K étaient négatifs, les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K non-extractible à l'ammonium ont diminué permettant ainsi de tamponner la diminution de la disponibilité des cations nutritifs.

Investiguer la possibilité de quantifier les pools isotopiquement échangeables par des approches indirectes

- (i) Les pools de cations échangeables mesurés par des méthodes conventionnelles d'extraction de sol sous-estiment les pools source/puit du sol mais certains réactifs d'extraction sous-estiment plus fortement ce pool source/puit. Une extraction du potassium échangeable par le baryum par exemple sous-estime plus largement le pool source/puit de potassium qu'une extraction par l'ammonium.
- (ii) Aucune des différentes méthodes d'extractions de sol utilisées dans ces travaux de thèse n'a permis d'estimer directement le pool isotopiquement échangeable.
- (iii) Des modèles statistiques linéaires et multivariés prédictifs ont pu être établis à partir des données d'analyses de sol conventionnelles et des données de teneurs élémentaires obtenues au cours de l'expérience de dilution isotopique (quantités élémentaires extraites en solution et dans les différentes extractions : $\text{NH}_4\#1$, $\text{NH}_4\#2$ et HNO_3). Ces modèles prédisent avec une bonne précision les pools isotopiquement échangeables de Ca, Mg et K.

- Les modèles construits à partir des variables mesurées au cours de l'expérience de dilution isotopique ont une précision prédictive plus importante que ceux construits à partir des propriétés physico-chimiques conventionnelles du sol.
- Ces deux types de modèles, bien que nécessitant une plus ample validation, sont assez précis pour être d'intérêt pour obtenir une estimation du pool isotopiquement échangeable.

Proposition d'un modèle conceptuel de pool biodisponible de Ca, Mg et K.

L'ensemble des résultats de cette thèse permettent de préciser la définition et le modèle conceptuel de la biodisponibilité des cations nutritifs dans le sol. L'approche par dilution isotopique démontre que les pools source/puit de Ca, Mg et K ne se limitent pas aux seuls pools échangeables mesurés conventionnellement. Ces pools sources/puits de Ca, Mg et K, jusque-là non comptabilisés dans les diagnostics de fertilité du sol sont susceptibles de jouer un rôle essentiel dans le fonctionnement biogéochimique des écosystèmes forestiers, notamment dans les écosystèmes où les ressources en Ca, Mg et K sont faibles, en fournissant une capacité supplémentaire à tamponner les pertes de cations. Ces résultats permettent de redessiner les contours du modèle conceptuel de pools biodisponibles en intégrant ces pools de cations disponibles additionnels mis en évidence dans cette thèse.

Modèle conceptuel de pools biodisponibles

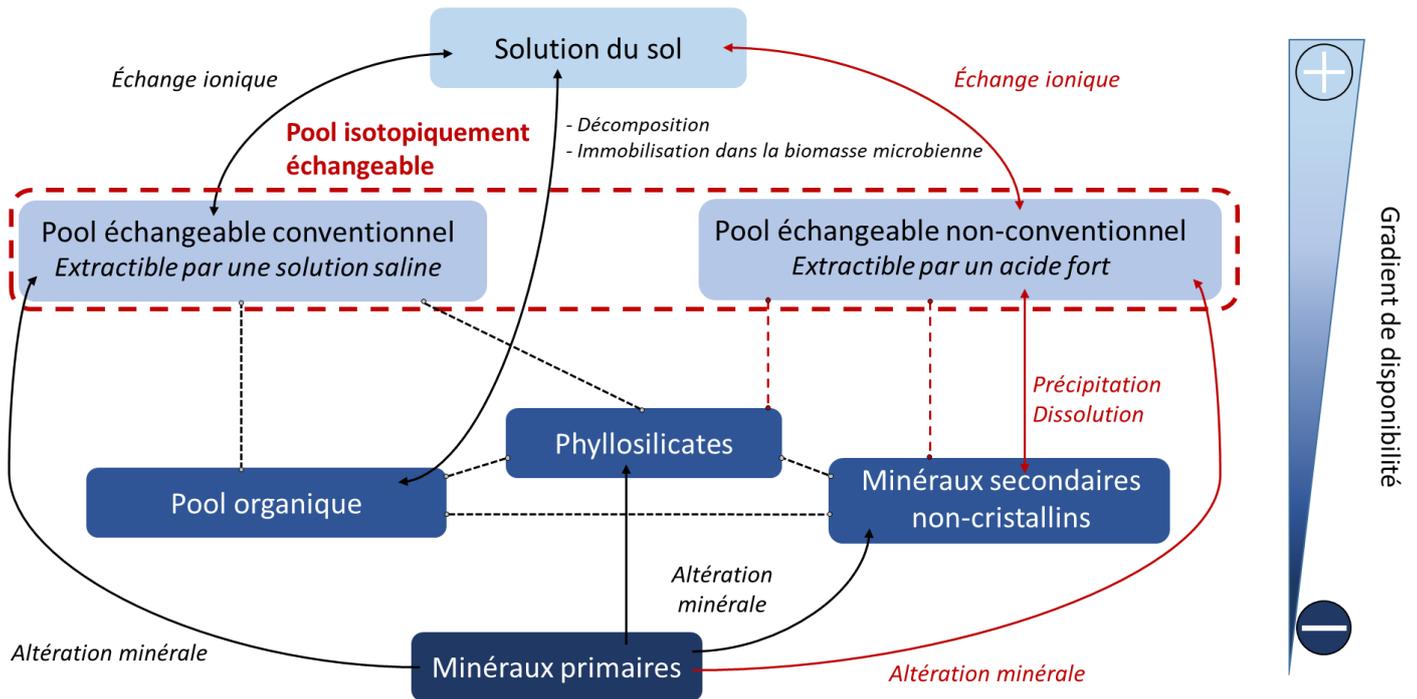


Figure VII-1. Modèle conceptuel de pools biodisponibles de Ca, Mg et K synthétisant les résultats de cette étude. Les lignes en pointillées symbolisent une fonction de support. Les encadrés et flèches noires symbolisent les pools et flux de cations nutritifs du modèle conceptuel conventionnel. Les encadrés et flèches rouges représentent les pools et flux additionnels mis en évidence dans ce projet de thèse.

